

Untersuchungen

zur

Morphologie und Physiologie der Zelle

von

Dr. Oscar Hertwig, o. Professor der Anatomie an der Universität Jena,

und

Dr. Richard Hertwig, o. Professor der Zoologie an der Universität München.

Heft 5.

Über den

Befruchtungs- und Teilungsvorgang des tierischen Eies

unter dem Einfluſs äuſserer Agentien.

Mit 7 lithographischen Tafeln.

Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1887.

Über den

Befruchtungs- und Teilungsvorgang des tierischen Eies

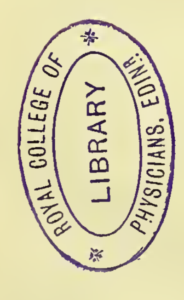
unter dem Einflufs äufserer Agentien.

Von

Dr. Oscar Hertwig,
o. ö. Professor der Anatomie an der Universität Jena,

und

Dr. Richard Hertwig,
o. Professor der Zoologie an der Universität München.



Mit 7 lithographischen Tafeln.

Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1887.

Bei unseren seit einer Reihe von Jahren begonnenen Untersuchungen über die Befruchtungs- und Teilungsvorgänge tierischer Eier hatten wir oftmals Gelegenheit, zu beobachten, in wie hohem Grade diese Vorgänge durch äußere Einflüsse beherrscht werden. Bereits im Jahre 1875 wurde bei der Darstellung des Befruchtungsprozesses bemerkt, daß anstatt eines einzigen Samenfadens zuweilen zwei, drei und mehr in wahrscheinlich pathologisch veränderte Eier anormaler Weise eindringen. Fol konstatierte darauf diese Thatsache ebenfalls und knüpfte an sie die Hypothese an, daß durch Eindringen von zwei, drei und mehreren Samenfäden Zwei-, Drei- und Vielfachbildungen erzeugt werden. Zu wiederholten Malen sind wir auf diesen Gegenstand zurückgekommen, eingehender jedoch im letzten Heft dieser Untersuchungen, wo es uns gelang, den experimentellen Beweis zu liefern, daß die Bastardbefruchtung besser gelingt, wenn sich das Eimaterial in einem etwas geschwächten Zustand befindet. Hierbei wurde die Schwächung der zu bastardierenden Eier durch längeres Verweilen derselben in Meerwasser vor Ausführung der Befruchtung hervorgerufen.

Infolge dieser mehrfachen Anregungen befestigte sich in uns der Plan, die Einwirkung äußerer Agentien auf den Befruchtungs- und Teilungsvorgang der Seeigeleier einer methodischen Untersuchung zu unterwerfen. Schon während unseres Aufenthaltes in Sorrent in den Osterferien 1884 gingen wir an die Ausführung des Planes, indem wir in den letzten Tagen vor unserer Abreise den Verlauf der Befruchtung unter der Einwirkung des Chloroforms verfolgten und hierbei schon eine Reihe interessanter Störungen ermittelten. Da eine erschöpfendere Behandlung der Frage damals von uns wegen der Kürze der Zeit nicht vorgenommen wer-

den konnte, betrachteten wir die Experimente mit Chloroform nur als vorläufige Ermittelungen und nahmen uns eine methodische und eingehendere Prüfung des vorliegenden Untersuchungsgebietes für die Zukunft vor.

Hierzu bot ein sechswöchentlicher Aufenthalt an der Riviera di Ponente in den Osterferien 1885 die passende Gelegenheit. Als Station benutzten wir das in der Nähe von Genua gelegene Nervi, dessen klippenreiche Küste uns ein geeigneter Aufenthalt für Echinodermen zu sein schien. Leider sahen wir uns in dieser Beziehung zum Teil getäuscht. Zwar kam der am Mittelmeer so gemeine Strongylocentrotus lividus in großen Mengen vor und konnte täglich leicht beschafft werden; dagegen war es nicht möglich, noch anderer Seeigelarten, welche wir in Spezia und Sorrent erhalten hatten, habhaft zu werden. Zum Teil hatte dies wohl darin seinen Grund, daß es in Nervi an einer Fischerbevölkerung fehlt, vielleicht auch darin, daß der Golf von Genua, wie man annimmt, weniger reich an Tieren ist. Uns war dieser Mangel anderer Seeigelarten um so unangenehmer, als wir auch Experimente in Bezug auf die Bastardierung geplant hatten, einen Wechsel des Ortes aber wegen äußerer uns behindernder Verhältnisse nicht vornehmen konnten, wie es sonst wohl geschehen wäre.

So konnten wir nur einen Teil unseres Planes zur Ausführung bringen, indem wir die Eier von Strongylocentrotus lividus vor, während und nach der Befruchtung erstens der Einwirkung verschiedener chemischer Agentien, zweitens der Einwirkung erhöhter Temperatur, drittens mechanischen Insulten unterwarfen. Im Anschluß daran wurde auch die Frage geprüft, inwieweit sich das Sperma durch äußere Agentien beeinflussen läßt und ob hierdurch der Befruchtungsprozeß abgeändert wird.

Vor unserer Abreise hatten wir uns zur Vornahme etwaiger Experimente mit einer kleinen Sammlung von Giften versehen, welche wir zum Teil der Freundlichkeit der Herren Kollegen Preyer und Krukenberg verdankten. Dieselbe bestand aus Chloroform, Chloralhydrat, Morphium hydrochloricum, Cocain, Strychnium nitricum, Chinium sulfuricum, Nicotin, Blausäure in Wasser gelöst, ferner aus Helleborin, Veratrin, Coniin, Piperin, Curarin. Aus Mangel an Zeit mußten wir uns auf die acht zuerst angeführten Stoffe beschränken, wie wir auch aus demselben Grunde den Einfluß von verschiedenen Gasarten, von Sauerstoff, Kohlensäure, Wasserstoff, Schwefelwasserstoff nicht prüfen konnten, obwohl

wir uns vor unserer Abreise auch für derartige Untersuchungen vorbereitet hatten.

Die freie Zeit am Meere benutzten wir hauptsächlich zur Untersuchung der Vorgänge am lebenden Objekte; um aber später noch Gelegenheit zu haben, in die feineren Veränderungen am Kern, die ein zeitraubendes Studium verlangten, eindringen zu können, konservierten wir verschiedene Serien von Eiern; wir töteten sie in Pikrinessigsäure ab und hoben sie nach sorgfältiger Auswaschung der Säure in 75 $^0/_0$ Alkohol in kleinen Reagensröhrchen auf. Während des Sommers wurde das Material allmählich verarbeitet. Es wurde teils mit Lithionkarmin, teils nach der Grenacher'schen Methode mit Boraxkarmin in der Weise gefärbt, daß die Eier erst 24 Stunden in den Farbstoff eingelegt und dann in 75$^0/_0$ Alkohol, dem ½—1 Prozent Salzsäure zugesetzt war, ausgezogen wurden; dann wurde es in Damaralack eingeschlossen. Um gute Präparate zu erhalten, muß man beachten, daß die Übertragung der Eier aus einem Medium in das andere allmählich erfolgt und daher am besten in Uhrschälchen vorgenommen wird. Aus absolutem Alkohol bringt man die Objekte am besten in eine Mischung von Nelkenöl und Alkohol zu gleichen Teilen und läßt den Alkohol verdunsten. Da bei feuchtem Wetter der absolute Alkohol leicht Wasser anzieht und dabei das Nelkenöl milchig getrübt wird, ist es zweckmäßig, die Uhrschälchen mit Präparaten unter eine Glasglocke zu setzen und ein Gefäß mit konzentrierter Schwefelsäure hinzuzufügen. Der zum Einschluß verwandte Damaralack muß sehr verdünnt sein. Wenn der Einschluß in Glycerin gewählt wird, ist ebenso in schonender Weise zu verfahren. Die Kernfiguren treten dann viel deutlicher hervor, als wenn die Verdrängung der einen Zusatzflüssigkeit durch die andere plötzlich erfolgt.

Vielfach ist es zweckmäßig, die Präparate in Nelkenöl zu untersuchen, da dieses noch wirksamer als Damaralack aufhellt. Man gewinnt hierbei noch einen weiteren Vorteil. Nelkenöl macht das Protoplasma bei längerer Einwirkung brüchig und spröde. Beim Zerklopfen zersplittert die Masse des Eies in kleine Stücke, und kann man bei vorsichtigem Verfahren die Kerne und Spindeln mehr oder minder vollständig isolieren. Für die Untersuchung feiner Strukturverhältnisse ist das Verfahren von Bedeutung.

Die erzielten Resultate besprechen wir in drei Kapiteln nach der Art der Agentien, durch welche die Geschlechtsprodukte beeinflußt worden sind. Das erste handelt über den Einfluß chemi-

scher Stoffe, das zweite über den Einfluß der Wärme und das dritte über den Einfluß mechanischer Erschütterung.

Erstes Kapitel.

Beeinflussung der Geschlechtsprodukte durch chemische Agentien.

Mit acht verschiedenen Stoffen wurden Versuche vorgenommen: mit Chloroform, Chloralhydrat, Morphium hydrochloricum, Cocain, Nikotin, Strychnium nitricum, mit Blausäure und Chinium sulfuricum. Wir ließen dieselben erstens auf die Geschlechtsprodukte vor der Vornahme der Befruchtung einwirken und zwar entweder allein auf die Eier oder allein auf das Sperma. Zweitens unterwarfen wir die Eier kurz nach dem Zusatz des Sperma's, bevor noch die inneren Befruchtungsvorgänge abgelaufen waren, dem Einfluß von chemischen Stoffen; drittens suchten wir den Verlauf des Teilungsprozesses durch einige der angeführten Mittel zu beeinflussen. Demnach gliedert sich das erste Kapitel in drei Abschnitte, von denen der erste in zwei weitere Abteilungen zerfällt.

I. Abschnitt.

Beeinflussung der Geschlechtsprodukte durch chemische Agentien vor der Befruchtung.

a. Der Eier.

1. Beeinflussung der Eier durch Nikotin.

Von einer konzentrierten Nikotinlösung (Nikotinextrakt) wurden verschiedene Mischungen bereitet, indem je ein Tropfen entweder zu 100 oder 200, 300, 400, 600, 1000 Gramm Meerwasser hinzugefügt wurde. Die unbefruchteten Eier wurden in Uhrschälchen mit diesen Lösungen übertragen und nach 5 oder 10 oder 15 oder mehr Minuten herausgenommen, in frisches und reines Meerwasser gebracht und befruchtet. Mit diesen Mischungen wurde eine größere Anzahl von Experimenten vorgenommen, deren Ergebnisse wir aus dem geführten Tagebuch mitteilen.

1. Versuch. Sonntag den 5. April. 1 Tropfen Nikotinextrakt auf 100 Wasser.

a. Die Eier verweilten in der Nikotinlösung von 10 Uhr 25 M. bis 10 Uhr 30 M.

Bei Zusatz des Samens hob sich sofort überall die Eihaut ab. Alsbald bildeten sich an jedem Ei mehrere Befruchtungshügel aus hyalinem Protoplasma, zuerst breit, später sich verschmälernd und in eine feine Spitze auslaufend. Nach 10 Minuten waren zahlreiche deutlich ausgeprägte Spermastrahlungen in jedem Ei entstanden. Um 1½ Uhr zeigten die Eier an ihrer Oberfläche mehrere unregelmäßige Furchen und Gruben und zerfielen durch fortschreitende Vertiefung derselben in viele kleinere und größere, oft noch zusammenhängende Teilstücke. In den größeren liegen häufig mehrere Strahlungen, die in dem auch sonst normal aussehenden Protoplasma deutlich ausgeprägt sind.

Born hat in seiner Arbeit über Amphibien diesen Modus der Eizerklüftung als Barockfurchung bezeichnet; wir werden uns im Folgenden hierfür des Namens Knospenfurchung bedienen. Normalgefurchte Eier konnten bei diesem Experiment nicht aufgefunden werden.

b. Von 3 Partien Eier verweilte ein Teil in der Nikotinlösung von 10 Uhr 25 M. bis 10 Uhr 35 M., ein anderer bis 10 Uhr 40 M., ein dritter bis 10 Uhr 45 M.

Das Resultat ist in den 3 Proben ein ähnliches. Die Eihaut war überall scharf abgehoben. Es wurden an jedem Ei viele Befruchtungskegel und bald darauf viele Spermastrahlungen gesehen. Um 2 Uhr erfolgte unregelmäßige Knospenfurchung. Die in Ruhezustand befindlichen Kerne fielen durch ihre besondere Größe auf. Am Montag sind Blastulae entstanden, die sich teils im Wasser flimmernd fortbewegen, teils matt flimmernd am Boden des Uhrschälchens liegen bleiben. Sie sind insofern abnorm gestaltet, als an Stelle des Gallertkerns sich eine trübe, mit glänzenden Körnchen erfüllte Masse gebildet hat. Die Larven gewinnen hierdurch eine kompaktere Beschaffenheit, daher wir uns zur Bezeichnung derselben des Namens Stereoblastulae bedienen wollen. Einige Eier des Versuchsmaterials sind zerfallen.

c. Die Eier verweilten in der Nikotinlösung von 10 Uhr 25 M. bis 11 Uhr. Jetzt hob sich die Eihaut nur sehr schwach ab. Viele Befruchtungskegel wurden gebildet, zahlreiche und ziemlich deutliche Strahlungen entstanden. Um 2 Uhr waren die

Eier meist noch kugelig und zeigten teils viele Strahlungen teils viele bläschenförmige Kerne. Einige Eier zeigten Knospenfurchung. Am Montag war das Versuchsmaterial abgestorben und zerfallen.

d. Die Eier verweilten in der Nikotinlösung von 10 Uhr 25 M. bis 11 Uhr 15 M.

Die Eihaut war zwar vom Dotter nicht abgehoben, war aber als deutlich doppelt kontouriertes Gebilde vorhanden. Sehr viele Spermatozoen dringen ein. An ihrer Eintrittsstelle erheben sich ganz kleine Befruchtungshügel. Um 2 Uhr ist die ganze Eioberfläche dicht bedeckt mit Spermastrahlungen, in welchen bläschenförmige Kerne zu sehen sind. Am Montag ist das Versuchsmaterial gleichfalls abgestorben und zerfallen.

2. Versuch. Montag den 6. April. 1 Tropfen Nikotinextrakt auf 100 Wasser. Die Eier verweilen von 10 Uhr 15 M. bis 10 Uhr 20 M. in der Nikotinlösung. Bei Zusatz sehr verdünnter Samenflüssigkeit hebt sich überall die Eihaut ab. Viele Samenfäden dringen ein und umgeben sich mit Strahlung. Um $1\frac{1}{2}$ Uhr beginnt die Knospenfurchung, wobei 8 bis 16 Teilstücke entstehen. Am Dienstag den 7. April finden sich teils frei im Wasser herumschwimmende, teils auf dem Boden des Uhrschälchens liegende Stereoblastulae.

Am folgenden Tag hat sich die Mehrzahl nur wenig verändert, einige haben reichlichere Gallerte entwickelt, einige sind zu Gastrulae geworden. Am 9. April sind unter den Larven einzelne Plutei zu sehen. Der größte Teil aber verharrt noch auf dem Stadium der abnormen Blastula- und Gastrulabildung.

3. Versuch. Dienstag den 7. April. 1 Tropfen Nikotinextrakt auf 100 Wasser. Die Eier verweilen von 2 Uhr 30 M. bis 2 Uhr 40 M. in der Nikotinlösung. Bei Zusatz von stark verdünnter Samenflüssigkeit hebt sich die Eihaut sofort ab. Viele, erst breite, später sich zuspitzende Befruchtungshügel entstehen. Nach einer Viertelstunde erkennt man den Grad der Polyspermie an den stark ausgeprägten Spermastrahlungen. Um 4 Uhr 45 M. beginnt die Knospenfurchung, durch welche das Ei in 8 bis 20 ziemlich gleichzeitig entstehende Teilstücke zerfällt.

Am 8. April sind Stereoblastulae entwickelt, die teils noch in die Eihaut eingeschlossen sind, theils frei herumflimmern. An der Oberfläche von manchen derselben hängen abgelöste kleine gekörnte Zellen.

Am Freitag den 10. April hat sich im Innern der Blastulae mehr Gallerte entwickelt; hier und da sind auch Kalknadeln und eine Gastrula-Einstülpung entstanden.

Am 12. April lebt noch der größte Teil der abnormen Larven und wird zu weiterer Untersuchung abgetötet und konserviert.

4. Versuch. Montag den 6. April. 1 Tropfen Nikotinextrakt auf 200 Wasser. Die Eier verweilen von 10 Uhr 35 bis 10 Uhr 40 M. in der Nikotinlösung.

Ein Teil des Materials wird normal befruchtet. Der andere Teil zeigt einen geringen Grad von Polyspermie. In zahlreichen Fällen kommt es zur Entwicklung eines einfachen Tetrasters. Um 12 Uhr sieht man außer normalen Zweiteilungen viele Vierteilungen, einige Sechsteilungen und Eier in Knospenfurchung. Am 7. April sind aus dem Versuchsmaterial teils normale Blastulae, teils wenige Stereoblastulae hervorgegangen. Die ersteren sind an den nächsten Tagen zu Plutei geworden, während letztere noch auf dem Blastula- oder Gastrulastadium verharren, dabei aber unter reichlicher Ausscheidung von Gallerte an Größe zugenommen haben.

5. Versuch. Montag den 6. April. 1 Tropfen Nikotinextrakt auf 300 Wasser. Die Eier verweilen von 2 Uhr 40 M. bis 2 Uhr 50 M. zum Teil bis 2 Uhr 55 M. in der Nikotinlösung.

Es entstehen nach Abhebung der Eihaut mehrere Befruchtungskegel. Um 4 Uhr 50 M. sind 4 bis 8 Strahlungen in der Eirinde zu sehen. Um 5 Uhr 15 M. beginnen die Eier durch Knospenfurchung in 6 bis 10 ungleich große unregelmäßige Stücke zu zerfallen. Noch nach 5 Tagen sind die aus dieser Zucht hervorgegangenen Larven große in Wasser herumflimmernde Gallertkugeln (Blastulae), einige haben eine Gastrulaeinstülpung erhalten.

Da sich die Tagebuchnotizen nur auf die am lebenden Ei wahrgenommenen Vorgänge beziehen, es aber wichtig erschien, auch in die feineren Veränderungen am Eikern und an den eingedrungenen Samenfäden Einblick zu gewinnen, wurden noch 3 Serien von Eiern, die mit Nikotin vor der Befruchtung behandelt worden waren, in Pikrinessigsäure zu genauerer histologischer Untersuchung eingelegt. In der 1. Serie waren die Eier während 5 Minuten in eine Nikotinlösung (1 : 200) gebracht, in der 2. Serie waren sie in derselben Lösung 8 bis 14 Minuten belassen worden. In beiden Serien wurden die Eier in 5 Intervallen nach 20, 45, 75, 105, 130 Minuten nach vorgenommener Befruchtung abgetötet.

In der dritten Serie waren die Eier mit einer Nikotinlösung (1:400) behandelt und in 7 Intervallen nach 15, 35, 50, 70, 90, 105, 130 Minuten nach der Befruchtung konserviert worden.

Die am lebenden und konservierten Material erhaltenen Ergebnisse fassen wir in übersichtlicher Weise zusammen.

Eine Einwirkung des Nikotins auf die Zellsubstanz macht sich bei stärkeren Lösungen wie 1:100 schon nach 3 bis 5 Minuten, bei schwachen Lösungen (1 : 1000) erst nach 10 bis 15 Minuten geltend und äußert sich in einer Störung des Befruchtungsvorganges. Der Grad der Störung ist ein verschieden großer je nach der Stärke der Nikotinlösung und der Zeit ihrer Einwirkung, welche man ziemlich ausdehnen kann. Denn man kann Eier in der Nikotinlösung (1 : 100) eine Stunde liegen lassen, ohne daß sie abgetötet werden, wennschon ihre Lebenskraft erheblich verändert wird, wie sich im weiteren Verlaufe ihrer Entwickelung herausstellt.

Bei Anwendung des Nikotins wie eines jeden anderen Mittels darf übrigens keine gleichmäßige Einwirkung auf das Eimaterial, etwa wie bei einer chemischen Reaktion erwartet werden. Namentlich ist bei schwacher Einwirkung des Nikotins der Erfolg ein sehr ungleichmäßiger. Während bei einem Teil der Eier der Befruchtungsvorgang gestört ist, verläuft er bei dem anderen Teil in gewöhnlicher Weise. Es ist dies ein neuer Beweis für die Erscheinung, welche schon in dem vorausgehenden Heft dieser Untersuchungen bemerkt worden ist, daß die aus dem Ovarium frisch entleerten Eier durchaus kein gleichartiges Material darstellen, daß von Anfang an individuelle Verschiedenheiten existieren, daß einige Eier ein größeres, andere ein geringeres Widerstandsvermögen gegen schädigende Einflüsse besitzen.

Bei schwacher Nikotineinwirkung, welche man erreicht, wenn man Eier 5 Minuten in einer Lösung 1 : 200 bis 1 : 500 oder 10 Minuten in einer Lösung 1 : 1000 liegen läßt, scheint der Befruchtungsvorgang zuerst normal zu verlaufen und es bedarf genauer Prüfung der Eier, um zu erkennen, daß bei einem Teil anormale Erscheinungen hervorgerufen worden sind. An allen schwach nikotinisierten Eiern hebt sich sofort bei Zusatz des Samens die Dotterhaut in üblicher Weise ringsum vom Dotter weit ab. Bei einem Teil der Eier ist nur ein einziges Spermatozoon eingedrungen, bei einem mehr oder minder großen Prozentsatz dagegen, bei welchem die Dotterhaut gleichfalls weit absteht, haben sich gleichzeitig zwei, drei oder vier in das Ei eingebohrt. In

den ersten 5 Minuten nach erfolgtem Spermazusatz erkennt man bei sorgfältiger Durchmusterung der Eier die anomale Befruchtung an dem Auftreten von 2 oder mehreren Befruchtungshügeln. Dieselben können sich nahe bei einander oder an ganz entfernten Punkten der Eioberfläche bilden. Später, d. h. nach 10 bis 20 Minuten, wo die Befruchtungshügel wieder in die Dottersubstanz eingezogen worden sind, wird die Überfruchtung durch die Anzahl der um die eingedrungenen Spermatozoenköpfe erscheinenden Strahlungen angedeutet. Die Strahlenbildung erfolgt bei den schwach nikotinisierten Eiern genau in derselben Weise und in derselben Stärke wie bei frischem Eimaterial. Überhaupt ist, abgesehen von der bei einem Teil der Eier hervorgerufenen Überfruchtung, zunächst keine Störung der weiteren Entwicklung festzustellen. Bei Eindringen eines Spermatozoons tritt die Kopulation des Ei- und Spermakerns, die Umwandlung des Furchungskerns in die Spindel und die Eifurchung in normaler Weise und zur normalen Zeit ein. Bei den überfruchteten Eiern aber sind die abweichenden weiteren Entwicklungsvorgänge, die später auf Grund des mit Reagentien behandelten Materials ausführlicher dargestellt werden sollen, in erster Linie auf die größere Anzahl der eingedrungenen Samenfäden zurückzuführen.

Bei Einwirkung einer stärkeren Nikotinlösung (1 : 100. 5 Minuten) oder einer schwächeren während längerer Zeit (1 : 500. 1 : 1000. 15—20 Minuten) wird eine größere Störung hervorgerufen. Es äußert sich dies erstens darin, daß bei Zusatz des Samens nur ganz vereinzelte Eier in normaler Weise durch einen Samenfaden befruchtet werden, und zweitens darin, daß die Überfruchtung eine hochgradigere wird, indem jetzt anstatt zweier oder dreier Spermatozoen zahlreichere eindringen. Man kann so den Grad der Überfruchtung successive steigern. Hierbei scheint es ziemlich gleichgültig zu sein, ob man bei den stärker nikotinisierten Eiern eine schwächere oder stärkere Spermalösung anwendet. Denn als wir in zwei Uhrschälchen in gleicher Weise mit Nikotin behandelte Eier gleichzeitig mit einer stärkeren und einer um das Zehnfache verdünnten Spermalösung versetzten, war in den beiden Versuchen kein Unterschied im Hinblick auf die Anzahl der eingedrungenen Samenfäden zu konstatieren. Dieselbe scheint vielmehr lediglich zu der Nikotineinwirkung in Beziehung zu stehen.

Die Veränderungen, welche durch verschieden lang anhaltende Einwirkung des Nikotin's erzeugt werden, wollen wir an einer

Versuchsreihe erläutern, die mit einer Lösung (1 : 100) vorgenommen wurde. Schon nach fünf Minuten Einwirkung wurden nur ganz vereinzelte Eier in normaler Weise befruchtet, wie sich bei Eintritt des Teilungsstadiums am leichtesten und sichersten erkennen ließ. Die Eihaut wurde überall, auch bei den überfruchteten Eiern, vom Dotter in normaler Weise ringsum weit abgehoben. Meist drangen 3—5 Samenfäden in ein Ei ein. Die bei ihrem Eindringen entstehenden Befruchtungshügel waren auffallend breit und groß und daher besonders leicht wahrzunehmen. Allmählich verschmälerten und verlängerten sie sich und zogen sich in eine feine Spitze, wie beim normalen Vorgang, aus.

Ähnlich waren die Erscheinungen bei einer Nikotinisierung, die 10, 15 und selbst 20 Minuten dauerte, nur daß jetzt überall Überfruchtung erfolgte und die Anzahl der eingedrungenen Samenfäden noch stieg.

Nach 35 Minuten begann sich die Eihaut bei Zusatz des Samens nicht mehr in normaler Weise abzuheben. Die Abhebung erfolgte sehr langsam und es bildete sich zwischen Membran und Dotteroberfläche nur ein schmaler Spaltraum aus. Nach 50 Minuten blieb die Eihaut dem Dotter ganz aufliegen, setzte sich aber von ihm als doppelt kontourierte Membran deutlich ab. Die Zahl der eingedrungenen Spermatozoen war noch gestiegen. An ihren Eintrittsstellen bildeten sich noch Befruchtungshügel, aber von kleineren Dimensionen aus. Das Protoplasma reagierte noch auf die eingedrungenen Spermatozoen durch Strahlenbildung. Infolgedessen war bei der großen Anzahl der eingedrungenen Samenfäden nach einiger Zeit die ganze Dotteroberfläche ringsum mit Spermastrahlungen dicht bedeckt.

Noch längere Einwirkung des Nikotins wurde nicht versucht, so daß der Zeitpunkt, von welchem an der Zusatz des Sperma keinen Erfolg mehr hat, nicht näher bestimmt werden kann.

Über die Vorgänge, welche sich nach der Befruchtung im Innern des Eies abspielen, gewinnen wir genauere Einblicke durch Untersuchung des konservierten Materials. 15 bis 20 Minuten nach der Befruchtung ist in der Regel die Verbindung des Eikerns mit einem oder mehreren der eingedrungenen Spermatozoen erfolgt. Sind nur 2 oder 3 Spermatozoen in den Dotter eingedrungen, so wandern sie fast stets insgesamt auf den Eikern zu und lagern sich seiner Oberfläche an, bald dicht bei einander, bald an entgegengesetzten Punkten. In dem Falle, daß zwei Samenfäden

von entgegengesetzten Punkten ihre Wanderung begonnen und sich an entgegengesetzten Stellen mit dem Eikern verbunden haben, veranlassen sie denselben, eine eiförmige Gestalt anzunehmen und kommen selbst an die beiden Pole des Ovals zu liegen. Bei Überfruchtung durch eine größere Anzahl von Spermatozoen erreichen diese niemals alle den Anschluß an den Eikern. Taf. I, Fig. 1 u. 2. Entweder fügt sich ihm nur ein einziges oder deren zwei oder drei an, während die übrigen in einiger Entfernung vom Eikern ihre Wanderung einstellen und von einem Strahlenkranz umgeben selbständig weitere Metamorphosen durchmachen. Im Allgemeinen läßt sich hier beobachten, daß, je stärker der Grad der Überfruchtung ist, eine um so größere Anzahl von Spermakernen eine ganz oberflächliche Lage in der Dotterrinde beibehält. Zuweilen sind sie in derselben ziemlich gleichmäßig verteilt, zuweilen zu einzelnen Gruppen zusammengerückt.

Die Lage des befruchteten Eikerns ist an den überfruchteten Eiern eine abnorme. Während unter regulären Verhältnissen der Eikern, auch wenn er von Anfang an exzentrisch gelegen ist, nach der Befruchtung durch einen Spermakern eine zentrale Stellung im Dotter einnimmt und sich mit einer immer mehr sich ausdehnenden und schließlich die Oberfläche erreichenden Strahlenbildung umgiebt, zeigt er nach Überfruchtung in den meisten Fällen eine exzentrische Lage und behält dieselbe für die Folgezeit auch bei. Taf. I, Fig. 1 u. 2. Er wird nicht ringsum von einer sich vergrößernden Strahlung eingehüllt, sondern läßt so viele einzelne und kleine Strahlungen, als sich ihm Spermakerne verbunden haben, erkennen.

Nach der Kopulation der Kerne vollziehen sich im Innern der überfruchteten Eier während 50 bis 60 Minuten nur unbedeutende Veränderungen. Dieselben äußern sich einmal darin, daß die chromatische Substanz der Spermakerne, welche eine Zeit lang dem Eikern höckerartig aufsitzen, in das Innere desselben aufgenommen wird. Daher zeigt der Furchungskern so viel rundliche Flecke von Chromatin, als Spermakerne die Kopulation vollzogen haben. Taf. I, Fig. 3.

Später, am Ende des uns jetzt beschäftigenden Stadiums, beginnt sich die in den Eikern aufgenommene chromatische Substanz mehr in Fäden und Strängen auszubreiten. (Taf. I, Fig. 4).

Eine zweite Veränderung besteht in einer Größenzunahme der Kerne und zwar sowohl des Furchungskerns als auch der

nicht zur Kopulation gelangten Spermakerne. Die Größenzunahme beruht wohl hauptsächlich auf einer Aufnahme von Kernsaft aus dem Eidotter, infolgedessen namentlich die Spermakerne ihre ursprüngliche Konsistenz einbüßen und schon im frischen Zustand als wasserhelle, von Dotterstrahlung umgebene Bläschen leicht wahrgenommen werden können. Nach Reagentienbehandlung und Färbung mit Boraxkarmin lassen sie sich weniger intensiv als auf dem früheren Stadium tingieren.

Eine dritte Veränderung endlich bildet sich erst beim Übergang zum zweiten Stadium aus. Der zu einer größeren Blase angewachsene Furchungskern nimmt eine unregelmäßige Beschaffenheit seiner Oberfläche an, er zieht sich in mehrere Höcker oder oft ziemlich spitz auslaufende Zipfel aus, Fig. 4. An der Spitze derselben ließ sich häufig ein glänzendes Körnchen wahrnehmen, welches den Mittelpunkt einer Strahlenbildung abgiebt. Hier und da scheinen sich einzelne Spermakerne dem Furchungskern noch nachträglich zu nähern und in ihn aufgenommen zu werden, wie wir aus vereinzelten Befunden, in denen ein Spermakern dem Furchungskern auf einem vorgerückten Stadium noch äußerlich angelagert war, glauben schließen zu dürfen.

Im zweiten Stadium, welches die Veränderungen vom Undeutlichwerden des Eikerns bis zum Beginn der Teilung umfaßt, entstehen die verschiedenartigsten Kernfiguren, je nachdem sich mit dem Eikern zwei oder mehr Spermakerne verbunden haben und je nachdem außer ihnen noch isolierte Spermakerne im Dotter vorhanden gewesen sind.

Um uns ein übersichtliches Bild von den zahlreichen verschiedenen Fällen zu verschaffen, teilen wir dieselben in 3 Gruppen.

1. Gruppe. 2 Spermatozoen dringen in das Ei ein und verbinden sich mit dem Eikern.

2. Gruppe. 2 und mehr Spermatozoen dringen in das Ei ein; von ihnen verbindet sich aber nur ein einziges mit dem Eikern, während die übrigen sich für sich allein weiter umbilden.

3. Gruppe. Von zahlreichen in das Ei gedrungenen Samenfäden verbinden sich 2, 3 und mehr mit dem Eikern, während der Rest sich für sich allein weiter umbildet.

Erste Gruppe.

Die Kopulation zweier Spermakerne mit dem Eikern führt zur Entstehung eines Tetrasters, wie er schon von Fol beschrieben worden ist. An vier in regelmäßigen Abständen voneinander befindlichen Punkten des stark vergrößerten Furchungskerns treten vier Strahlensysteme auf (Fig. 6) und ist die Kernoberfläche in kurze Zipfel ausgezogen. Die chromatische Substanz beginnt sich in Form gewundener Fäden gleichmäßig im Kernraum auszubreiten. Dann verschwindet — wir beschreiben verschiedene konservierte Objekte in der Reihenfolge, welche sich aus ihrer feineren Struktur als selbstverständlich ergiebt (Fig. 7) — die Kernmembran, so daß nunmehr ein Haufen gewundener Nucleinfäden im Zentrum von vier Strahlungen eingeschlossen ist. Daraus entwickelt sich der typische Tetraster. Wie an zahlreichen Präparaten mit Deutlichkeit gesehen werden konnte, sind die Mittelpunkte der Strahlungen durch vier Kernspindeln, die in einer Ebene liegen (Fig. 8), untereinander verbunden. Die chromatische Substanz hat, wenn wir die 4 zu einem Quadrat verbundenen Spindeln von der Fläche erblicken, die Form eines Kreuzes mit 4 gleichen Schenkeln angenommen. Die Kreuzform ist aus dem chromatischen Fadenwerk hervorgegangen, weil sich einzelne gekrümmte kurze Chromatinstäbchen der Mitte einer jeden Spindel angelagert und sich so in gleichmäßiger Weise auf die 4 Spindeln zu verteilen begonnen haben. Dann teilt sich die Kernplatte einer jeden Spindel in der üblichen Weise in zwei Tochterplatten; diese wandern nach den Spindelenden hin, deren je zwei in einem Attraktionszentrum zusammenstoßen, und verbinden sich je zwei, um einen neuen bläschenförmigen Kern zu bilden. So erhält man (Fig. 5) aus den 8 Tochterkernplatten der 4 Spindeln, da sich diejenigen der Nachbarspindeln immer paarweise verbinden, nur vier höckerige Kerne, deren Lage im allgemeinen mit der Lage der vier Attraktionszentren zusammenfällt.

An derartigen Objekten haben wir den Theilungsvorgang beim Studium des frischen Materials genau verfolgen können. Es bilden sich gleichzeitig auf der Eioberfläche vier Furchen, die zwischen den 4 Kernen einschneiden. Die vier Quadranten bleiben eine Zeit lang im Mittelpunkt des Eies durch vier Stiele untereinander in Verbindung, bis auch diese einreißen. In Vierteilung begriffene Eier findet man zu derselben Zeit, wo die normal befruchteten sich in 2 Stücke zu teilen beginnen, da die Tetraster-

bildung nicht mehr Zeit als die einfache Spindelbildung für sich beansprucht. Beide Arten halten auch in ihrer weiteren Entwicklung gleichen Schritt. Wenn hier die Vierteilung, erfolgt dort die Achtteilung und so weiter.

Eine ziemlich häufige Modifikation der Tetrasterbildung ist uns noch aufgestoßen, von welcher wir aber nicht anzugeben im stande sind, durch welche Ursachen sie bedingt ist, ob durch verspätete Annäherung des zweiten Spermakerns oder durch eine besondere Stellung desselben oder durch irgend ein anderes Moment.

An dem vergrößerten Keimkern, der in drei Zipfel ausgezogen ist, treten anstatt vier nur drei Strahlenbildungen auf, dagegen nimmt man in einiger Entfernung von dem Triaster noch eine isolierte Strahlung im Dotter wahr (Taf. I Fig. 9). Zwei Chromatinflecke, die an manchen Objekten im Kern aufgefunden wurden, könnte man wohl als Anzeigen betrachten, daß eine Befruchtung durch zwei Spermatozoen stattgefunden habe. An einem Präparat eines etwas weiter vorgerückten Stadiums ist das Chromatin in Fäden im Kernraum verteilt. Dann schwindet die Kernmembran. Zwischen den vier Strahlenzentren sind jetzt mit aller Deutlichkeit an gelungenen Präparaten die Spindelfasern wahrzunehmen. (Fig. 10). Die Lage der Spindeln aber differiert von der Lage in der typischen Tetrasterform. Denn nur drei Spindeln sind untereinander zu einem Dreieck verbunden und umschließen den zwischen ihnen zentral gelegenen Haufen von Chromatinfäden, die vierte Spindel hat sich zwischen der isolierten Strahlung und einer Strahlung des Triasters entwickelt. Während also im regulären Tetraster die beiden Enden der vier Spindeln gegenseitig verbunden sind, liegt hier ein Spindelende mit einer Strahlung frei im Dotter, in einer andern Strahlung stoßen 3, in der dritten und vierten je 2 Spindelenden zusammen. Diese ganze Gestaltung übt nun auch ihren Einfluß auf die Verteilung der Chromatinfäden aus. Dieselben ordnen sich in drei Kernplatten an, die in den Aquator der drei zu einem Triaster verbundenen Spindeln zu liegen kommen, während die vierte Spindel frei von Chromatinkörnchen zu bleiben scheint. Solche waren wenigstens an zahlreichen gut gelungenen Tinktionspräparaten bei der stärksten Vergrößerung nicht wahrzunehmen. Auf dem nächsten Stadium spalten sich die drei Kernplatten in je 2, welche nach den 3 Attraktionszentren auseinanderrücken. (Fig. 16.) An konserviertem Material haben wir die weitere Umbildung dieser eigentümlichen Kernteilungsform nicht verfolgen können. Doch haben wir mehrfach im frischem Zustand Eikerne

mit 3 Attraktionszentren und benachbarter vierter Strahlung aufgefunden und durch fortgesetzte Beobachtung feststellen können, daß Vierteilungen eintraten und zwar Vierteilungen, bei denen die eine Teilungsebene senkrecht zur anderen stand.

Zweite Gruppe.

An die Besprechung der Tetraster- und Triaster schließen wir einige seltnere Befunde an, welche dadurch hervorgerufen werden, daß zwar zwei oder drei Samenfäden in den Dotter eindringen, indessen nur einer von ihnen sich mit dem Eikern verbindet. Alsdann entwickelt sich aus diesem eine einfache typische Spindel, die aber meistens exzentrisch und zuweilen ganz oberflächlich im Dotter gelegen ist. Die Spermatozoen, die nicht zur Kopulation mit dem Eikern gelangt sind, gehen selbständig weitere Metamorphosen ein. Sie vergrößern sich, indem sie sich aus dem Dotter mit Kernsaft durchtränken. Daß die Vergrößerung nicht auf einer Vermehrung des Chromatins allein beruht, können wir wohl daraus schließen, daß an den Tinktionspräparaten sich die Spermakerne weniger intensiv als unmittelbar nach der Befruchtung färben. In vielen Fällen findet die Ansammlung von Kernsaft in der Weise statt, daß sich eine Vacuole bildet, in welche die chromatische Substanz wie ein Nucleolus eingeschlossen ist. Taf. I Fig. 6[a]. Noch etwas später beginnt sich die Spermastrahlung zu verdoppeln. So entsteht eine Bildung, welche wir als Samendoppelstern oder als Spermaamphiaster bezeichnen und vom Amphiaster des Furchungskernes eine Zeit lang durch ihre geringere Größe sofort unterscheiden können.

Zwischen den beiden Strahlungen geht allmählich der Spermakern aus der kugeligen in eine spindelige Form über. Die bei diesem Prozeß zur Beobachtung kommenden Bilder sind verschieden, je nachdem eine Vacuolenbildung stattgefunden hat oder nicht. In letzterem Falle entsteht eine kleine zuerst nicht faserig differenzierte, homogene Spindel, die aus zwei Substanzen zusammengesetzt ist, aus einer achromatischen, welche die beiden Spitzen der Spindel bildet, und aus Chromatin, welches das Mittelstück darstellt. Taf. I Fig. 17 und 18. Auf späteren Stadien kann sich der Unterschied zwischen den aus dem Furchungskern und den aus Spermakernen abstammenden Spindeln vollständig verwischen. Es entwickelt sich ein Bündel achromatischer Fäden, die mit ihren Enden in den Mittelpunkten der beiden Strahlungen zusammen-

stoßen. Aus dem chromatischen Mittelstück bilden sich die Chromatinfäden hervor.

Im andern Falle, wo es zur Bildung einer Vacuole gekommen ist, nimmt dieselbe zwischen den beiden Strahlungen eine ovale Form an. Die oben als Nucleolus beschriebene Substanz löst sich auf in Fäden und Körnchen, die zum Teil chromatisch sind (Fig. 11 a und b). Dann beginnen die Kontouren der längsgestreckten Vacuole zu verschwinden; die achromatischen Teile wandeln sich hierbei in ein Bündel von Spindelfasern um, deren Mitte die chromatischen Körnchen anliegen (Fig. 11 c und d).

Dritte Gruppe.

Kernfiguren von sehr verschiedenartigem und kompliziertem Aussehen entstehen, wenn eine größere Anzahl, etwa 5—10 Spermatozoen, in das Ei eingedrungen ist. Hier ist wieder der einfachste Fall der, daß sich zwei Spermakerne mit dem Eikern verbinden, 3—5 aber isoliert oder in Gruppen vereint im Dotter liegen. Es entwickelt sich alsdann gewöhnlich exzentrisch in der Eirinde die uns schon bekannte Triaster- und Tetrasterform. Die isolierten Spermakerne gestalten sich zu kleinen Spindeln um, wie sie schon oben beschrieben worden sind, und rufen an ihren beiden Enden im Dotter eine Strahlenbildung hervor (Taf. I Fig. 18).

Es ist nun von Interesse zu sehen und für das Verständnis der entstehenden Kernfiguren von Wichtigkeit, daß die einzelnen Spermaamphiaster das Bestreben haben, sich mit ihren Enden untereinander oder mit dem Spindelkomplex, welcher aus dem überfruchteten Eikern abstammt, in Verbindung zu setzen und so immer komplizierter werdende Figuren zu erzeugen. Zum Beispiel ist in Figur 18 die eine Strahlung eines Spermaamphiasters mit einer Strahlung eines Triasters zusammengeflossen. In einem anderen Fall haben sich in derselben Weise zwei Spermaamphiaster mit dem Tetraster verbunden.

In einem dritten Präparat sahen wir eine reguläre Tetrasterbildung und in einiger Entfernung von ihr ganz an der Oberfläche des Eies zwei Spermaamphiaster in der Weise zusammen verbunden, daß sie eine Strahlung gemeinsam haben. Die Aneinanderlagerung der Kerne ist also nicht nur auf das Anfangsstadium der Befruchtung beschränkt, sondern setzt sich auch dann noch fort, wenn bereits die faserige Differenzierung der Kernsubstanz begonnen hat. Es können aber auch die Samenspindeln bis zum Eintritt der Teilung für sich isoliert bleiben und gleichen sie dann

in den Veränderungen, die sie erleiden, und in ihrem Aussehen vollkommen den aus einem befruchteten Kern hervorgehenden Spindeln, wie es durch Fig. 19 illustriert wird. Neben einem Triaster, dessen Kernplatten nach den drei Polen auseinandergerückt sind, lassen sich vier isolierte Samenspindeln im Dotter ziemlich gleichmäßig verteilt nachweisen. Alle stehen sie genau in derselben Phase der Umbildung, indem ihre Kernplatten sich gespalten haben und wie beim Triaster in der Nähe der beiden Pole liegen.

Komplizierter werden die Figuren, wenn gleich von Anfang an mehr als zwei Spermakerne sich an den Eikern angelegt haben. Letzterer schwillt allmählich zu einem außergewöhnlichen Umfang an. An zahlreichen Stellen der Blase, die gewöhnlich zu kleinen Spitzen ausgebuchtet sind, entwickeln sich nach einiger Zeit Strahlungen. Dann ordnet sich die chromatische Substanz im Innern der Blase zu kleinen Fäden an, während an ihrer Oberfläche zwischen den Strahlungen zahlreiche Spindeln deutlich werden, die anfänglich nur von achromatischen Fäden gebildet werden. Ein derartiges Präparat ist in Fig. 13 abgebildet. Um einen zentral in Kernsaft eingebetteten Haufen chromatischer Fäden konnten wir bei Einstellung des Mikroskops auf verschiedene Ebenen sechs Strahlungen, von welchen eine etwas abseits liegt, bemerken. Dieselben hängen wenigstens durch sieben Spindeln untereinander zusammen.

Charakteristische und schärfer gezeichnete Figuren entstehen nach Verlauf von zwei bis drei Stunden. Es hat sich alsdann die chromatische Substanz in der bekannten Weise auf die einzelnen Spindeln verteilt, wodurch Zahl und Lage derselben besser zu bestimmen ist. Ferner haben sich jetzt auch in den stark überfruchteten Eiern alle Spermakerne, mögen sie sich der aus dem Eikern entstandenen Kernfigur angeschlossen oder untereinander verbunden haben oder isoliert geblieben sein, in typische Spindeln umgewandelt. Hiermit ist zugleich auch der Höhepunkt in der Mannigfaltigkeit wunderbarer Kernformen erreicht. Seltener findet man in derartigen Eiern ein einziges Aggregat zahlreicher Spindeln, häufiger deren zwei oder drei, zuweilen auch daneben einzelne isoliert gebliebene Spindeln.

Einige der zahlreichen von uns angefertigten Präparate mögen hier eine nähere Beschreibung finden.

Fig. 12 a, b zeigt uns eine relativ einfache Spindelanhäufung, welche man bei Einstellung des Mikroskops auf zwei Ebenen, b und a, klar übersieht. Bei höherer Einstellung (Fig. 12^b) nimmt

man drei Spindeln wahr, welche zu einem Triaster verbunden sind. Mit zwei Strahlungen desselben hängen noch zwei andere Spindeln zusammen; die eine geht von der Strahlung 1 aus, und wendet sich schräg nach abwärts, um mit ihrer zweiten Spitze in der etwas tiefer gelegenen Strahlung 2 (Fig. 12[a]) zu enden. Die andere Spindel ist genau vertikal gestellt und reicht von der Strahlung 3 nach der erst bei tieferer Einstellung des Mikroskops sichtbar werdenden Strahlung 4. Zwischen 2 und 4 liegt abermals eine Spindel in schräger Richtung, und endlich ragt von der Strahlung 4 noch eine Spindel etwas tiefer herab zu der isolierten Strahlung 5. In der Mitte jeder Spindel findet sich chromatische Substanz als ein Streifen lebhaft tingierter Körnchen, während die chromatische Substanz der einen vertikal gestellten Spindel als ein Kreis roter Körnchen erscheint.

Einen zweiten Fall veranschaulicht Taf. II Fig. 20[a] und [b].

Vier Strahlungen liegen in etwas größerer Entfernung von einander in einer Ebene und sind durch fünf Spindeln, deren jede in ihrer Mitte eine Zone chromatischer Substanz zeigt, verbunden, und zwar so, daß vier Spindeln die Seite eines Rhombus bilden, während die fünfte sich quer zwischen den am meisten genährten Ecken des Rhombus ausspannt. Mit dieser Figur sind drei weitere Spindeln verbunden; eine Spindel, welche von der mit 1 bezeichneten Strahlung in schräger Richtung nach abwärts bis zu Punkt (2) reicht, eine Spindel, welche von 1 aus in vertikaler Richtung sich aufwärts bis zu Punkt 3 Tafel II, Fig. 20[b] erstreckt, und eine dritte Spindel, die von 3 beginnend horizontal liegt und nur bei höherer Einstellung des Mikroskopes zu sehen ist.

In seltenen Fällen können die Spindeln, anstatt nach verschiedenen Richtungen den Eiraum zu durchsetzen, auch dichter zusammengedrängt sein und eine kompakte und zuweilen sehr regelmäßige Figur erzeugen. Ein interessantes Beispiel liefert uns Taf. I Fig. 14. Die Summe der Kernspindeln stellt hier etwa eine plattgedrückte Kugel dar, deren beide Pole wir als x und y bezeichnen wollen und durch je eine Strahlung bezeichnet sehen. Am Pol x, den wir allein erblicken, da das Mikroskop auf die obere Fläche der Kugel eingestellt ist, treffen sechs Spindeln mit ihren Spitzen zusammen und reichen von hier, indem sie wie die Speichen eines Rades divergieren, mit ihren entgegengesetzten Spitzen an sechs Strahlungen heran, die in regelmäßigen Abständen den Äquator der Kugel umgrenzen. Diese sechs äquatorialen Strahlungen sind durch sechs Spindeln zu einem Ring vereinigt.

Dieselbe Anordnung wiederholt sich auf der uns abgewandten Seite der plattgedrückten Kugel, denn auch hier reichen von den sechs äquatorialen Strahlungen sechs Spindeln in radiärer Richtung zu der dem Beobachter abgewandten Polstrahlung y. Endlich sind noch die beiden Polstrahlungen x und y direkt durch eine vertikal gestellte Spindel verbunden, deren Kernplatte als ein Kreis von sechs Chromatinkörnchen sichtbar und etwa im Zentrum der kugeligen Figur gelegen ist. Es beläuft sich demnach in unserer Figur die Summe aller mit ihren Enden verknüpften Spindeln auf 19. Dabei stossen in den beiden Polstrahlungen sieben Spindelenden, in den sechs Äquatorialstrahlungen dagegen je vier Spindelenden zusammen.

Der Kernteilungsprozeß verläuft bei den so komplizierten Figuren genau in derselben Weise wie beim Triaster und Tetraster, wie wir an der Abbildung 15 a und b erläutern wollen. Die Kernfigur besteht hier aus 13 Spindeln. Den höchsten Punkt bezeichnet die Strahlung 1, von welcher sich in radiärer Richtung vier Spindeln zu den ein wenig tiefer gelegenen Strahlungen 2—5 begeben. Diese letzteren stehen noch in direkter Verbindung durch die in einem Halbkreis angeordneten Spindeln. Von Strahlung 1 führt außerdem eine genau vertikal gestellte Spindel zu der Strahlung 6, welche wieder den Mittelpunkt für einen tiefer gelegenen Teil der Kernfigur abgiebt. Denn erstens sehen wir von ihm wieder, wie von Punkt 1 sich drei Spindeln in radiärer und etwas aufsteigender Richtung mit den etwas höher gelegenen Strahlungen 3, 4 und 5 verbinden. Zweitens erstreckt sich von hier eine Spindel in entgegengesetzter Richtung zu der in der andern Eihälfte gelegenen Strahlung 7, von welcher noch unter rechtem Winkel eine Spindel zu der Strahlung 8 abgeht. Die in den vorhergehenden Abbildungen beschriebenen einfachen Zonen chromatischer Substanz haben sich gespalten und sind nach den Spindelenden auseinander gerückt. Auf diese Weise sammeln sich in der Umgebung der einzelnen Strahlungen, die gleichsam einzelne Attraktionszentren darstellen, da in ihnen eine abwechselnde Anzahl von Spindelenden zusammenstößt, auch eine wechselnde Menge von Streifen chromatischer Substanz. Zu den Attraktionszentren 5 und 6 mit ihren fünf Spindelenden rücken fünf Streifen chromatischer Substanz und schließen zu einem Kreis zusammen. Die Attraktionszentren 3 und 4 vereinigen je vier Streifen zu einem Halbring. In 5 und 7 sind zwei Körnchenstreifen vorhanden, während nach Strahlung 8 nur ein Streifen gerückt ist. Die Folge

ist, daß die einzelnen aus der Teilung hervorgehenden Tochterkerne sehr ungleiche Mengen chromatischer Substanz empfangen. Denn die Tochterkerne entstehen an den einzelnen Attraktionszentren, mit denen sie an Zahl übereinstimmen, aus der sich daselbst ansammelnden chromatischen Substanz. Man sieht daselbst wie Fig. 20 zeigt, einzelne Haufen kleiner Bläschen auftauchen, die sich vergrößern und schließlich zu einem einfachen, bläschenförmigen ovalen oder kugeligen Kern verschmelzen. Die zuerst auftretenden Haufen kleiner Bläschen stehen noch eine Zeitlang durch achromatische Spindelfäden, die aber bald schwinden, in Zusammenhang. In den Beispielen Fig. 14 und Fig. 15 würden mithin acht Tochterkerne, hier und dort aber in einer etwas abweichenden Weise entstehen müssen.

Wie schon gesagt, ist es bei den stark überfruchteten Eiern eine häufig zu beobachtende Erscheinung, daß sich im Dotter mehrere getrennte Komplexe von Spindeln entwickeln. Zum Beleg diene Fig. 21 a, b. In derselben treffen wir ein größeres exzentrisch gelegenes Aggregat von 10 Spindeln, welche wir bei Einstellung des Mikroskops auf zwei Ebenen überschauen können. In der einen Ebene (b) liegen fünf Spindeln, die zu einem Rhombus in der schon Taf. II Fig. 20 beschriebenen Weise verknüpft sind. Von der Strahlung 1 gehen nun in divergierender Richtung zwei Spindeln schräg aufwärts zu den bei einer etwas höheren Einstellung des Mikroskops (a) sichtbar werdenden Strahlungen 5 und 6. Indem von ihnen wieder zwei horizontal gelegene Spindeln ausgehen und sich in der Strahlung 7 treffen, entsteht ein zweiter etwas höher gelegener Rhombus. Beide Rhomben hängen, abgesehen von der ihnen gemeinsamen Strahlung 1, auch noch dadurch zusammen, daß sich zwischen die Strahlungen 2 und 3 des tieferen und die Strahlungen 5 und 6 des höheren Rhombus zwei vertikal gerichtete Spindeln einschieben.

Etwas abseits von dem beschriebenen Spindelkomplex liegt 1) eine einfache Spindel, deren chromatische Substanz bereits in zwei Streifen gespalten ist, 2) eine wie es schien, ganz isolierte und in ihrer Entstehung uns unklar gebliebene Strahlung, 3) ein Tetraster mit noch nicht scharf entwickelter Spindelbildung und einer zentral gelegenen noch nicht deutlich in einzelne Streifen gesonderten Ansammlung chromatischer Körnchen.

Über den weiteren Verlauf der Befruchtung bei den stark nikotinisierten Eiern ist jetzt noch folgendes zu berichten. Wenn sich die mehr oder minder zahlreichen Tochterkerne aus den Spin-

delaggregaten hervorgebildet haben, was im allgemeinen nach drei Stunden geschehen ist, so macht sich an den Eiern auch äußerlich der Eintritt des Zerklüftungsprozesses bemerklich. Es entwickeln sich zahlreiche, wohl zur Anzahl der Tochterkerne in Beziehung stehende Furchen auf der Oberfläche. Indem dieselben tiefer einschneiden, wird die Eioberfläche mit größeren und kleineren hervorgewölbten Höckern oder Knospen bedeckt, in denen je nach ihrer Größe ein oder mehrere Kerne eingeschlossen sind. Es können so ziemlich unregelmäßige Figuren entstehen. Die Knospen beginnen sich an ihrer Basis einzuschnüren und bleiben dann gewöhnlich noch einige Zeit durch Stiele im Zentrum des Teilungskörpers im Zusammenhang stehen. Dann isolieren sich die kleineren Knospen, die größeren beginnen kleinere Knospen zu treiben und dann auch zu zerfallen, so daß gewöhnlich eine halbe Stunde, nachdem sich die erste Furchenbildung gezeigt hat, das ganze Ei in zahlreiche Stücke von verschiedener Größe zerfallen ist. Die größeren davon enthalten oft mehrere Kerne. Wir nennen diesen für die Vielbefruchtung charakteristischen Prozeß, weil sich gleichzeitig viele und unregelmäßige Knospen bilden und zur Teilung führen, die Knospenfurchung.

2. Beeinflussung der Eier durch Morphium hydrochloricum.

Im Verhältnis zu den übrigen verwandten Stoffen haben Morphiumlösungen einen auffallend geringen Einfluß auf die Eier. Lösungen unter 0.1% rufen auch bei längerer Einwirkung keine nennenswerten Veränderungen hervor, und selbst bei Lösungen von 0.1% und 0.2% bedarf es einer stundenlangen Dauer, ehe man mit Sicherheit Abnormitäten in den Befruchtungsvorgängen feststellen kann. Da nun bei mehrstündigem Liegen der Eier die Einflüsse sich geltend machen, welche auch beim Verweilen in reinem Meerwasser unausbleiblich sind, und man somit es nicht mehr mit der Einwirkung des chemischen Stoffs allein zu thun hat, haben wir hauptsächlich mit konzentrierteren Lösungen von 0.4 und 0.6% experimentiert. Über die letztgenannte Konzentration hinauszugehen verbietet sich von selbst, da die in der Wärme bereitete Lösung dann anfängt, beim Erkalten Krystalle abzusetzen.

Unter dem Einfluß des Morphiums verlieren die Strahlungserscheinungen im Inneren des Eies an Intensität und auch die Befruchtungskegel bleiben klein, so daß es nicht leicht fällt, schon kurz nach der Befruchtung festzustellen, ob in normaler Weise nur

ein Spermatozoon oder ob zwei und mehr derselben eingedrungen sind. Zur Entscheidung dieser Frage haben wir daher vielfach die Beschaffenheit der späteren Entwicklungsstadien benutzt. Treten direkte Vierteilungen auf, zu einer Zeit, wo normalerweise die Eier erst zweigeteilt sein sollten, so kann man bei der Anwendung von Morphium, da dasselbe den Teilungsvorgang normal befruchteter Eier an und für sich nicht verändert, mit ziemlicher Sicherheit den Schluß ziehen, daß zwei oder drei Spermatozoen eingedrungen sind. Knospenfurchung ist ein Hinweis auf ausgesprochene Polyspermie. Auch die Bildung von Stereoblastulae und stark verzögerte Gastrulation können als Fingerzeige benützt werden, wenn sie auch nicht in gleichem Maaße beweiskräftig sind.

Versuche mit 0.1% und 0.2% Lösung.

Über die Versuche mit schwächeren Lösungen wollen wir kurz im Zusammenhang berichten. Während der ersten zwei Stunden der Einwirkung werden die Eier normal befruchtet, erst nach zweistündiger Behandlung beginnen allmählich Befruchtungen mit mehr als einem Spermatozoon aufzutreten. Nach dreistündiger Morphiumwirkung mehren sich die Fälle von Polyspermie, doch giebt es selbst nach sechs Stunden noch Eier, welche normal befruchtet werden.

Versuche mit 0.4% Morphiumlösung.

Während der ersten Stunde der Einwirkung ist so gut wie gar keine Veränderung der Eizellen zu konstatieren; erst von da ab kann man eine erhebliche Zahl von Eiern nachweisen, bei denen zwei oder mehr Spermatozoen eingedrungen sind. Immerhin kann man erst bei fünfstündiger Morphiumbehandlung mit einiger Sicherheit darauf rechnen, daß alle Eier von mehr als einem Spermatozoon befruchtet werden. Auf die Bildung der Dotterhaut hat eine 0.4% Morphiumlösung keinen Einfluß, dieselbe unterbleibt erst zu einer Zeit, wo es auch beim Liegenlassen der Eier in Wasser der Fall sein würde.

Zum Beweis des Gesagten besprechen wir zwei Versuchsreihen genauer.

1. Versuchsreihe mit 0.4% Morphiumlösung.

Am 3. April früh 7 Uhr 15 Min. wurden frisch aus dem Eierstocke entleerte Eier in eine 0.4% Morphiumlösung gebracht. Bei einer Einwirkungsdauer von 50 Minuten traten nur äußerst wenig Abnormitäten auf; bei zwei Eiern konnten doppelte Befruchtungs-

kegel, bei einem anderen im weiteren Verlauf deutliche Doppelstrahlungen erkannt werden. Nach Verlauf von zwei Stunden waren sämmtliche Eier in Teilung begriffen, einige wenige zerfielen sofort in vier Teilstücke, die meisten waren zweigeteilt.

Ganz ähnliche Resultate wurden erzielt, als die Eier um 8 Uhr 45 Min. zur Befruchtung aus dem Morphium herausgenommen wurden, nachdem sie $1\frac{1}{2}$ Stunden in der Lösung gelegen hatten. Ein geringer Unterschied wurde erst auf dem Stadium der Teilung bemerkbar, indem die Zahl der Vierteilungen sich als größer erwies und bei einigen auch die Anzeichen unregelmäßiger Knospung auftraten.

Eine wesentliche Veränderung ergab sich, als ein neuer Versuch um 9 Uhr 45 Min. mit Material, welches $2\frac{1}{2}$ Stunden in Morphium gelegen hatte, ausgeführt wurde. Schon gleich zu Anfang konnten an einigen Eiern doppelte Befruchtungskegel nachgewiesen werden. Als später die Strahlung deutlich wurde, mehrten sich die Eier mit unzweifelhafter Polyspermie. Demgemäß fielen auch die Bilder auf dem Teilungsstadium aus. Wohl der zehnte Teil zerfiel unmittelbar in vier Stücke, dazwischen waren wenige unregelmäßige Knospenteilungen. Um 2 Uhr, also vier Stunden nach der Befruchtung, waren alle Eier entweder vier- oder achtgeteilt.

Der vierte Versuch mit dem gleichen Ausgangsmaterial wurde um 11 Uhr nach fast vierstündiger Einwirkung des Morphiums ausgeführt. Die Membran wurde noch sehr deutlich abgehoben, aber sehr viele Eier zeigten gleich von Anfang an Polyspermie. Um $12\frac{3}{4}$ Uhr, nicht ganz zwei Stunden nach Vornahme der Befruchtung, war die Hälfte der Eier in Vierteilung und nur ein Viertel in normaler Zweiteilung begriffen. Der Rest bestand aus den verschiedensten Teilungsformen, welche zu einem Zerfall des Eies in eine große Anzahl Stücke führten. Bei manchen lag ein großes Stück auf der einen Seite, kleine knospenartige Teile auf der anderen Seite.

Bei dem fünften Versuch, welchen wir um 12 Uhr nach fast fünfstündiger Morphiumwirkung vornahmen, hob sich die Eihaut noch immer in normaler Weise ab, aber fast überall trat Polyspermie ein. Bei der Teilung waren normale Zweiteilungen spärlich, auch die Zahl der Vierteilungen war geringer geworden und betrug nur ein Drittel der Eier, dagegen hatten sich die unregelmäßigen Teilungsformen sehr vermehrt. Ein Rest von Eiern war bei den Versuchen übrig geblieben und wurde bis zum folgenden Tag in der Morphiumlösung belassen. Um 9 Uhr 15 M. (genau nach 26

Stunden) wurde mit ihnen noch eine letzte Befruchtung ausgeführt. Überall trat Polyspermie ein, bei einigen Eiern wurde die Dotterhaut nicht mehr abgehoben, bei den meisten trat dieser Prozeß indessen immer noch, wenn auch sehr verlangsamt ein. Bei einem Teil der letzteren war die Dotterhaut durch einen ziemlich weiten Zwischenraum von der Eioberfläche getrennt, bei anderen war sie nur wenig abgelöst. Am Abend waren die meisten Eier todt; die überlebenden gaben ein sehr mannigfaltiges Bild. Einige Eier waren nicht abgefurcht, enthielten aber im Innern große blasige Kerne, andere zeigten auf der einen Seite abgeschnürte Zellstücke, während der Rest eine vielkernige Protoplasmakugel war, noch andere unterlagen einer unregelmäßigen superfiziellen Furchung. Im großen und ganzen gewann man den Eindruck, daß die abgestorbenen Eier die genannten Teilungserscheinungen ebenfalls durchgemacht hatten und daß die überlebenden bald absterben würden.

2. Versuchsreihe mit 0.4% Morphiumlösung.

Eine zweite Versuchsreihe mit der 0.4% Morphiumlösung am 6. April ergab im wesentlichen gleiche Resultate. Die Eier wurden 11 Uhr 30 Min. in die Morphiumlösung entleert und successive befruchtet um

1) 12 Uhr nach ½ Stunde,
2) 12 Uhr 40 Min. nach 1 Stunde u. 10 Min.,
3) 1 Uhr 20 Min. nach fast 2 Stunden,
4) 2 Uhr 40 Min. nach 3 Stunden u. 10 Min.,
5) 4 Uhr 20 Min. nach fast 5 Stunden.

Wir können die ersten vier Versuche gemeinsam besprechen; sie wurden sämmtlich erst auf dem Teilungsstadium untersucht. In allen überwogen die Zweiteilungen, doch waren schon beim ersten Versuch Vierteilungen vorhanden. Ihre Zahl vermehrte sich proportional der Dauer der Morphiumeinwirkung und erreichte bei dem um 2 Uhr 40 M. befruchteten Eiquantum etwa ein Drittel.

Am folgenden Tag (7. April) Abends war das Blastulstadium erreicht. Die meisten Blastulae waren normal und zeigten die ersten Spuren der Gastrulation, einige enthielten wenige Körner im Innern, andere waren ganz vollgepfropft, und waren somit typische Stereoblastulae. Am folgenden Tag war bei ersteren die Gastrula fertig gestellt, und auch die pathologischen Formen schickten sich an, die Gastrulaeinstülpung zu bilden.

Ganz anders verhielt sich das um 4 Uhr 20 M. befruchtete Eimaterial. Hier trat nirgends normale Teilung ein; lange verharrten die Eier auf einem Zustand, wo ein einziger Kern mit zahlreichen Strahlungen vorhanden ist. Später wurden sie in 4, 5 und mehr knospenartig zusammenhängende Stücke eingeschnürt. Tags darauf hatten nur wenige Blastulae ein normales Ansehen; meist erblickte man Blastulae, deren Furchungshöhle zum Teil oder ganz mit glänzenden Körnchen erfüllt war. Die Gestalt derselben war unregelmäßig, vielfach eingebuchtet, hie und da sogar tief gelappt.

Am zweiten Tag waren die normal entwickelten Blastulae zu Gastrulae geworden; die unregelmäßigen Formen besassen nur ausnahmsweise einen Anfang der Gastrulaeinstülpung. Meist schwammen sie langsam herum mit anhängenden und sich ablösenden Zellfetzen. Einige waren geplatzt. Viele waren klein, offenbar weil sie Verluste am Körpermaße erlitten hatten. Die kleinen klebten öfters zusammen, als ob sie aus Teilung eines größeren Körpers hervorgegangen wären.

Versuche mit 0.6% Morphiumlösung.

Die meisten Versuchsreihen wurden mit 0.6% Morphiumlösung angesetzt. Denn es stellte sich heraus, daß selbst dieser außergewöhnliche Grad der Konzentration noch von den Eiern vertragen wurde. Da die Einwirkung rascher eintrat, waren die üblen Nebeneinflüße des langen Liegens im Wasser nicht zu befürchten.

1. Versuchsreihe.

Die erste Versuchsreihe wurde am 4. April um 8¾ Uhr angesetzt und die erste Befruchtung nach einer halben Stunde vorgenommen. Dieselbe schien überall eine ganz normale zu sein, wenigstens haben wir nirgends das Eindringen von mehr als einem Spermatozoon nachweisen können. Immerhin sprach der weitere Verlauf der Entwicklung dafür, daß hie und da Dispermie eingetreten war. Denn bei der Teilung wurden einige Eier direkt in vier Stücke erlegt, andere ergaben Knospungsfiguren.

Bei der Befruchtung um 9¾ Uhr (nach einstündiger Morphiumwirkung) war die Polyspermie in vielen Fällen ganz unzweifelhaft. Wir konnten dabei eine interessante Beobachtung machen. Zwischen der Oberfläche des Eies und der wenn auch etwas verlangsamt so doch deutlich und weit abgehobenen Eimembran fanden sich bei mehreren Eiern freibewegliche Spermatozoen. Sie schlängelten sich auf der Oberfläche des Eies hin und her, vermochten aber nicht in dieselbe einzudringen. Wir haben sie lange Zeit

unter dem Mikroskop beobachtet und feststellen können, daß ihre Bewegungen nach einiger Zeit schwächer wurden und endlich ganz aufhörten.

Nach Verlauf von zwei Stunden war das Teilungsstadium erreicht; die Hälfte der Eier zerfiel direkt in 4, die andere Hälfte in 2 Stücke. Spärlich war die Zahl der Knospungsfiguren.

Bei den beiden folgenden Befruchtungen, welche um $10\frac{1}{4}$ und $11\frac{1}{4}$ vorgenommen wurden, waren im Ganzen keine größeren Abweichungen im Vergleich zu dem vorher erwähnten Versuch nachzuweisen. Die Zahl der Vierteilungen schien sogar eine geringere zu sein; dafür hatten freilich die Knospungsfiguren zugenommen.

Die nächste und zugleich letzte Befruchtung wurde erst nach weiteren zwei Stunden ausgeführt. Die Eier hatten nunmehr $4\frac{1}{2}$ Stunden in $0.6\frac{0}{0}$ Morphiumlösung gelegen. Die Dotterhaut wurde nicht mehr in normaler Weise gebildet; sie hob sich blasenartig hier und dort ab, war aber schließlich ringsum vollkommen abgelöst. Überall drangen viele Spermatozoen ein, was zur Folge hatte, daß zur normalen Zeit nirgends Teilung eintrat. Nach $1\frac{1}{2}$ Stunden war meist noch der Eikern als große Blase, im weiteren Umkreis von vielen Spermastrahlungen umgeben, sichtbar. Selten war er in Spindelbildung übergegangen, ein Zeichen, daß eine Verschmelzung von Ei- und Sperma-Kern sich vollzogen hatte. Erst nach einer weiteren Stunde traten Furchungserscheinungen ein. Stets war an einem Pol das Ei intakt, am anderen schnürten sich dagegen knospenförmige Stücke in sehr mannigfacher Weise ab.

Die letzterwähnte Partie kam nicht zur Weiterentwicklung; alle übrigen ergaben dagegen gute Resultate. Nach zwei Tagen (am 6. April) war die Gastrulation bei einem Teil vollzogen, andere Eier waren noch Stereoblastulae. Auch hier mehrte sich die Zahl der Stereoblastulae in den einzelnen Partien proportional der Zeitdauer der Morphiumwirkung.

2. Versuchsreihe.

Am 5. April Nachmittags 4.30 wurden neue Eier in $0,6\frac{0}{0}$ Morphiumlösung gelegt. Die erste Partie wurde schon nach einer Viertelstunde befruchtet. In vielen Eiern ließ sich Doppelstrahlung erkennen, später ($6\frac{1}{2}$ Uhr) zeigte nur die Hälfte des Materiales normale Zweiteilung, der Rest vorwiegend Vierteilung und auch Knospungsfiguren. Nach 17stündiger Entwicklung fanden sich fast nur Blastulae mit normalem Aussehen, bei denen die

Mesenchymbildung noch nicht begonnen hatte; wenige Blastulae hatten kleine Haufen von Körnern in ihrer Furchungshöhle.

Bei der um 5 Uhr (also nach halbstündiger Morphiumwirkung) vorgenommenen Befruchtung war ebenfalls bei vielen Eiern Dispermie zu bemerken. Nach $1\frac{1}{2}$stündiger Entwicklung befand sich ein Drittel in Zweiteilung, ein anderes Drittel in Vierteilung, der Rest zeigte Knospung. Nach 17 Stunden waren die meisten Eier zu normalen Blastulae geworden, wenige enthielten im Inneren Körnerhaufen.

Um 5 Uhr 15 Min. befruchtete Eier ließen hie und da schon drei Spermastrahlungen im Inneren des Eies erkennen. Am folgenden Tag waren wesentlich weniger normale Blastulae vorhanden; einige Blastulae waren sogar ganz von Körnchen vollgepfropft.

Die zwei weiteren Befruchtungen um 5.45 und 6 Uhr wurden mit verdünntem Sperma ausgeführt. Trotzdem drangen 2 oder 3 oder viele Spermatozoen in die Eier ein. Namentlich bei der 6 Uhr-Portion war die Polyspermie ganz überwiegend. Bei ihr waren daher am folgenden Tag nur wenige normale Blastulae zu sehen, freilich auch wenige Stereoblastulae, die meisten Larven hatten im Inneren Körnerhaufen von wechselnden Dimensionen. Unter den Stereoblastulae hatten einige große Kugeln in ihrem Inneren.

Bei allen Versuchen gelang die Weiterentwicklung; die normalen Blastulae wurden zu Gastrulae, auch die Blastulae mit geringer Körneranhäufung erfuhren die Einstülpung, nur die Stereoblastulae blieben unverändert.

3. Versuchsreihe.

Eine dritte Versuchsreihe wurde am 6. April 11 Uhr 30 Min. begonnen und die erste Befruchtung abermals nach einer Viertelstunde vorgenommen. Auf die Erscheinungen bei der Befruchtung konnte nicht geachtet werden, zur Beurteilung wurde das Verhalten bei der Teilung benutzt. Hierbei ergab sich, daß ein Viertel der Eier einer Vierteilung unterlag, die meisten übrigen in normaler Weise sich zweiteilten, wenige Eier Knospungsfiguren lieferten. Nach 24 Stunden waren fast alle zu normalen Blastulae, nach weiteren 24 Stunden zu normalen Gastrulae geworden. Wenige Blastulae enthielten Körnerhaufen in der Furchungshöhle, noch weniger waren davon ganz angefüllt. Diese hatten 48 Stunden nach der Befruchtung noch keine Gastrulae gebildet. Am 10. April fanden sich fast nur normale Plutei.

Bei einer zweiten Partie, welche eine halbe Stunde in der Morphiumlösung gelegen hatte, teilte ein Drittel der Eier sich sofort in vier Stücke. Später waren keine Unterschiede zur ersten Partie erkennbar.

Beim folgenden Versuch wurde die Einwirkungsdauer des Morphium auf 1 Stunde 10 Min. ausgedehnt (11.30 — 12.40). Die Zahl der Vierteilungen steigerte sich bis zur Hälfte, auch die Knospungsfiguren hatten zugenommen, der Rest (fast $\frac{1}{2}$) bestand aus Zweiteilungen. Abends 6 Uhr hatten alle Eier ein sehr gleichförmiges und regelmäßiges Aussehen, sie ließen sich von normalen Morulae nicht unterscheiden. Auch am folgenden Tag waren die meisten Larvenformen ganz normal, einige enthielten Körnerhaufen in der Furchungshöhle, wenige waren davon ganz erfüllt. Am dritten Tag war über die Hälfte in die vollständige Gastrulaform übergeführt, die übrigen waren Blastulae mit mehr oder minder stark entwickeltem Körnerinhalt und zeigten fast sämtlich die Anfänge der Gastrulation. Am 12. April schwammen viele Plutei frei herum, viele Larven lagen am Boden und waren noch Gastrulae, deren Furchungshöhle mit Körnern erfüllt war. Immerhin hatte auch bei ihnen die Umwandlung in den Pluteus begonnen.

Eine vierte Befruchtung wurde 1 Uhr 20 Min. ausgeführt mit Eiern, welche somit fast zwei Stunden in Morphium gelegen hatten. Über die Hälfte erlitt Vierteilung, auch die Zahl der Knospungsfiguren war ansehnlich, so daß auf die normalen Zweiteilungen nur ein Drittel kam. Auch hier hatten die abgefurchten Eier ein gutes Aussehen, und waren unter ihnen am folgenden Tage wenige Blastulae, bei denen Körnerhaufen in der Furchungshöhle lagen. Am dritten Tag war bei der Hälfte die Gastrula ausgebildet, bei der anderen Hälfte wurde die Einstülpung angelegt. Hier waren dann die Furchungshöhlen mit Körnerhaufen erfüllt.

Im Vergleich zu den bisher besprochenen Entwicklungsreihen ergab die nächst folgende erhebliche Unterschiede. Sie wurde 2.10 angesetzt, nachdem die Eier von 11.30 an, d. h. 2 Stunden 40 Min. im Morphium gelegen hatten. Die Zweiteilung trat ganz zurück, auch die Zahl der Vierteilungen war nicht groß; um so mehr überwogen die Knospungen. Abends waren die Eier zwar abgefurcht, die einzelnen Furchungskugeln aber sehr ungleich groß. Tags darauf waren viele Larven unregelmäßig eingeschnürt; fast alle enthielten Körnerhaufen im Inneren, wenn auch nur wenige prall erfüllt waren. Viele von ihnen starben ab, bevor das Gastrula-

stadium eingetreten war, einige erreichten sehr spät das Gastrulastadium, einige wurden rechtzeitig zu Gastrulae umgebildet. Am 15. April war nur ein kleiner Teil noch vorhanden, und diese enthielten in ihrer Furchungshöhle Körnerhaufen; nur zum Teil waren sie zu Plutei geworden, andere waren über das Gastrulastadium nicht hinausgekommen.

Die längste Einwirkungsdauer des Morphium bei der vorliegenden Versuchsreihe war drei Stunden, von 11.30—2.40. Lange Zeit blieb der Eikern bestehen, umgeben von vielen Spermastrahlungen; dann trat Knospenfurchung ein; äußerst wenige Eier teilten sich in vier Stücke.

3. Beeinflussung der Eier durch Strychninlösungen.

Die Strychninbehandlung ruft bei den Eiern der Seeigel Erscheinungen hervor, welche in wichtigen Punkten von denen sich unterscheiden, welche im Verlauf der Morphiumeinwirkung erzielt werden. Die Strahlungsfiguren sind nicht allein nicht herabgesetzt, sondern sogar verstärkt, die Befruchtungskegel ragen auffallend stark über die Eioberfläche hervor und entspringen mit breiter Basis aus dem Dotter, so daß es leichter als sonst fällt, die Zahl der eingedrungenen Spermatozoen zu bestimmen.

Ferner treten die Veränderungen sehr rasch ein. Bei stärkeren Lösungen genügten schon fünf Minuten, vielleicht könnte man die Zeitdauer sogar noch geringer bemessen, bei schwächeren Lösungen war schon eine Einwirkung von 20 Minuten ausreichend. Dabei kann man die Konzentration der Lösungen sehr gering nehmen, indem schon eine 0,005% Strychninlösung bei 10 Minuten einen merklichen, bei 20 Minuten sogar einen ganz erheblichen Einfluß hat. Wir besprechen die Einwirkungen der einzelnen Lösungen getrennt.

1) Versuche mit 0.005% Strychninlösung.

Bei einem ersten Versuch ergab sich, daß schon eine Einwirkung von 10 Minuten eine starke Polyspermie zur Folge hatte. Es ließ sich das sofort am Anfang konstatieren und fand später in der Beobachtung, daß fast nur Vierteilungen und Knospenfurchungen eintraten, seine Bestätigung; zum Teil hatte die Polyspermie in der besonderen Beschaffenheit der Eizellen ihren Grund. Denn als diese, ohne vorher der Strychninwirkung unterlegen zu haben, befruchtet wurden, wurde die Eimembran verlangsamt abgehoben, ein Zeichen, daß das Material gelitten hatte. Demgemäß stellte es sich bei einem zweiten Versuch mit einem an-

deren Tier heraus, daß selbst bei 20 Minuten langer Dauer höchstens ein Drittel der Eier von mehr als einem Spermatozoon befruchtet wurde.

2. Versuche mit 0.0075% Strychninlösung.

Die geringfügige Verstärkung der Lösung von 0.025% hatte schon wesentlich andere Resultate zur Folge. Es wurden Einwirkungsdauern von 10, 15 und 20 Minuten gewählt. Sowohl die Untersuchung des frischen Materials als auch die Behandlung mit Reagentien führten zu dem Resultat, daß nur ein kleiner Teil Eier von einem Spermatozoen, der Rest dagegen von mehreren, meist 2, selten 3—5 Spermatozoen befruchtet worden war. Proportional der Einwirkungsdauer nahm die Zahl der monospermen Eier ab, die Zahl der polyspermen zu. Als Teilung eintrat, zerfiel daher auch die Hälfte der Eier in vier Stücke, die andere Hälfte war von Zweiteilungen und Knospungsfiguren gebildet. Das relative Verhältnis beider zu einander war nun derart, daß bei der Einwirkungsdauer von 10 Minuten die Zweiteilungen, bei der Einwirkungsdauer von 20 Minuten die Knospungsfiguren überwogen.

Die Eier der drei Serien wurden gemeinsam weiter kultiviert und entwickelten sich zu einem Gemisch von Blastulae, Stereoblastulae und Übergangsformen beider. Die Mehrzahl erreichte das Pluteusstadium, wenn auch viele zuvor abstarben.

3) Versuche mit 0.01% Strychninlösung.

1. Versuch. Bei einer Einwirkungsdauer von fünf Minuten konnte keine Polyspermie nachgewiesen werden, weder durch eine Vermehrung der Strahlungen noch der Befruchtungskegel. Tags darauf waren die meisten Blastulae normal, wenige enthielten in der Furchungshöhle Körnerhaufen. Am dritten Tag der Entwicklung war nur ein Drittel der Eier zu normalen Gastrulae geworden, alle übrigen Larven besaßen die Furchungshöhle mit Körnerhaufen angefüllt, zum Teil waren sie schon zu Gastrulae geworden, zum Teil waren sie erst im Begriff, die Einstülpung zu bilden. Am siebenten Tag waren noch keine Pluteusformen erkennbar. Wenn auch die Larven Spicula und einen Ösophagus besassen, so waren sie doch meist noch kugelig und zeigten eine übermäßige Mesenchymentwicklung.

Das Gesagte gilt auch von einer zweiten Partie Eier, welche 10 Minuten im Strychnin gelegen hatte. Nur konnte bei derselben in einigen Fällen das Eindringen von mehreren Spermatozoen an der Vermehrung der Spermastrahlungen erkannt werden.

Eine dritte Partie Eier blieb 20 Min. in der 0.01% Strychninlösung liegen, ehe sie befruchtet wurde. Hier war gleich von Anfang an bei einigen Eiern die Vielbefruchtung unzweifelhaft, indem sie 2–3 Befruchtungskegel besaßen; noch sicherer war die weite Verbreitung der Polyspermie später an den Spermastrahlungen zu erkennen. Tags darauf waren fast nur Stereoblastulae vorhanden, welche erst am dritten Tag der Entwicklung teilweise anfingen die Gastrula zu bilden, während andere zerplatzten und zu Grunde gingen. Am 17. Tage lebten nur noch wenige Larven als kugelige Stereoblastulae oder als leidlich normal aussehende Plutei.

Die letzte Partie Eier war eine halbe Stunde lang der Strychninwirkung ausgesetzt worden; daher zeigte denn ein jedes Ei nach der Befruchtung gleich auf den ersten Blick mehr als einen Befruchtungshügel; an einigen zählten wir sechs; später traten in jedem Ei mehrere Spermastrahlungen auf. Die Blastulae, welche aus dieser Entwicklung stammten, hatten fast alle ein schlechtes Aussehen und starben in großer Anzahl bald ab. Einige von ihnen, obwohl im Inneren vollgepfropft von Körnchen, bildeten am dritten Tage das Gastrulasäckchen aus und nahmen am siebenten Tage die Pluteusgestalt an.

2. Versuch. Eier, welche von einem anderen Weibchen stammten, wurden an dem gleichen Tag (11. April) 10 und 15 Minuten der Behandlung mit Strychnin ausgesetzt und beide Partien, da sie keine größeren Unterschiede ergaben, in dasselbe Schälchen vereint. Unter den Teilungen waren viele Vierteilungen und Knospungsfiguren. Am Tag darauf hatten alle Blastulae ein gutes Aussehen, doch waren sie nur zu einem Drittel normal, ein zweites Drittel hatte eine ganz von Körnchen erfüllte Furchungshöhle, bei einem dritten Drittel war das nur teilweise der Fall. Am 14. April schwamm ein Teil der Larven frei im Wasser herum, ein anderer Teil lag nach wie vor am Boden. Der erstere bestand aus Gastrulae, welche in Umbildung zu Plutei begriffen waren, und aus Stereoblastulae, bei denen die Einstülpung sich entwickelte. Am Boden befanden sich Stereoblastulae von zerfetztem Aussehen, die von losgelösten Zellhaufen bedeckt waren. Am 18. April endlich schwärmten viele Plutei im Wasser, einige davon mit doppelter Spitze und mit im Übermaß entwickelten Stacheln. Die Stereoblastulae hatten sich, so weit sie nicht abgestorben waren, in Gastrulae verwandelt.

4) Versuche mit 0.025% Strychninlösung.

Obwohl die Strychninlösung nur fünf Minuten auf das Eimaterial einwirkte, waren doch die Eier in hohem Maße alteriert. Als

die Befruchtung vorgenommen wurde (11. April 3 Uhr 20 Min.), hob sich zwar die Dottermembran rasch ab, allein es trat wohl überall Polyspermie ein. An vielen Eiern waren 2—3 Befruchtungskegel zu sehen, später traten im Inneren 4 und mehr Spermastrahlungen auf. Die inneren Befruchtungsvorgänge waren meist nach Verlauf von 1½ Stunden noch nicht abgelaufen. Neben den Spermastrahlungen war der Eikern zumeist noch zu sehen, oder er fing erst an in Beziehung zu den Spermakernen zu treten. Am 12. April schwammen im Wasser fast nur Stereoblastulae von gutem Aussehen herum. In den folgenden Tagen starben aber die meisten derselben ab, die übrigen waren in der Bildung der Gastrula mehr oder minder vorgeschritten.

5. Versuche mit 0.1% Strychninlösung.

Die ersten orientierenden Versuche über die Strychninwirkung wurden mit 0.1% und 0.25% Strychninlösung gemacht und zwar bei einer Einwirkungsdauer von 5 Minuten, 10 Minuten und 20 Minuten.

Eier, welche am 7. April Nachmittags mit 0.1% Strychninlösung 5 Minuten lang behandelt worden waren, zeigten bei der Befruchtung sofort starke Polyspermie; fast ein jedes besaß mehrere außerordentlich breite Befruchtungshügel, später sehr deutlich mehrere Spermastrahlungen, dabei wurde die Eimembran rasch abgehoben. Nach zwei Stunden, als Teilung eintrat, war nur ein Drittel in Zwei- oder Vierteilung begriffen, sonst waren nur Knospungsfiguren zu sehen. Am folgenden Tag waren nur Stereoblastulae in der Zucht vorhanden, zum Teil schwammen dieselben frei herum und hatten eine glatte Oberfläche, zum Teil lagen sie mit unregelmäßig höckeriger Gestalt am Boden. Am zweiten und dritten Tag schwamm eine große Anzahl leidlich aussehender Blastulae im Wasser herum; nur ein Viertel lag am Boden. Am 14. April (sieben Tage nach der Befruchtung) waren immer noch die Blastulae in überwiegender Zahl; manche waren ganz klein, weil sie wahrscheinlich einen Teil ihres Zellmaterials ausgestoßen hatten. Gering war die Zahl der Gastrulae, noch geringer die der Plutei.

Nach einer 10 Minuten dauernden Behandlung mit Strychnin wurde bei der Befruchtung die Eihaut etwas verlangsamt abgehoben. Polyspermie trat ein wie bei der beschriebenen Partie; die Spermastrahlungen im Innern der Eizellen waren deutlich ausgeprägt. Reguläre Teilungen erfolgten gar nicht mehr, sondern

unregelmäßige Knospungen. Am folgenden Tage lagen alle Blastulae noch am Boden, ihr Inneres war von Körnerhaufen erfüllt, ihre Gestalt sehr unregelmäßig. Am Tag darauf besserten sich die Verhältnisse, indem etwa drei Viertel eine leidlich normale Gestalt angenommen hatten und frei im Wasser schwammen. Für die späteren Stadien gilt alles, was auf der vorigen Seite von den fünf Minuten lang behandelten Eiern gesagt wurde.

Bei Eiern, welche 20 Minuten lang in der Strychninlösung verweilt hatten, war rücksichtlich der Befruchtungserscheinungen nichts besonderes zu erwähnen. Die Eihaut wurde noch, wenn auch verlangsamt, gebildet. Aber bei der Teilung ergaben sich Unterschiede, indem die Eier in höchst unregelmäßiger Weise durch oberflächliche Furchen in größere und kleinere im Innern zusammenhängende Stücke zerlegt wurden. Nur ein Teil der Larven vermochte am Tag darauf die Eihaut zu verlassen, bei der Hälfte blieb der Embryo als ein Haufe von kleineren und größeren Zellkugeln in der Eihaut liegen. Eine weitere Entwicklung trat nicht ein.

Alle diese Erscheinungen steigerten sich bei einer Einwirkungsdauer des Strychnins von 45 Minuten. Jetzt wurde auch die Eihaut nicht mehr ordentlich abgehoben und war nur durch einen schmalen Spalt vom Ei getrennt. Die Strahlungsfiguren dagegen waren noch deutlich. Die Eier zerfielen in große und kleine Teilstücke mit mächtigen Kernen, aber die so gebildeten Embryonen verließen die Eihülle nicht mehr. Nach 1¼stündiger Einwirkung des Reagens unterblieb die Membranbildung vollständig.

6) Versuche mit 0.25% Strychninlösung.

Schon bei einer 5 Minuten lang dauernden Behandlung mit 0.25% Strychnin war bei der Befruchtung eine Verlangsamung in der Abhebung der Eimembran zu konstatieren. Das Ei bedeckte sich mit vielen großen Befruchtungshügeln, denen dann auch viele sehr deutliche Spermastrahlungen entsprachen. Zweiteilungen waren nicht zu beobachten, Vierteilungen nur in geringer Zahl, und so wurde die Hauptmasse der Eier durch Knospenfurchung in Blastulae übergeführt. Diese hatten am folgenden Tag ein zerfetztes Außere, flimmerten zwar, vermochten sich aber nicht über den Boden zu erheben und frei herum zu schwimmen. Meist gingen sie bald zu Grunde, wenige lebten noch am zweiten Tag.

Über die Resultate, welche bei einer 10 Minuten langen Behandlung erzielt wurden, kann ich mit wenigen Worten hinweg-

gehen, da sie im Vergleich zu dem Vorigen nur eine geringe Steigerung der Einwirkung des Giftes boten. Wurde nun die Einwirkungsdauer noch weiter auf 25 Minuten und darüber gesteigert, so unterblieb die Bildung der Eimembran hie und da ganz. Die Strahlungsfiguren im Inneren des Eies wurden undeutlich. Immer seltener wurden die Fälle, in denen das Ei durch Knospung in unregelmäßige Stücke zerlegt wurde; immer mehr wurde es dagegen zur Regel, daß die Eier abstarben, bevor noch Andeutungen einer Furchung eingetreten waren. Nach einstündiger Einwirkung unterblieb schließlich auch die Bildung der Dotterhaut.

4. Beeinflussung der Eier durch Chloralhydrat.

Zu den Versuchen wurden Lösungen von 0,1 und 0,2 und 0,5 % Chloralhydrat im Meerwasser angewandt. Die erstere Lösung rief bei kurzer Anwendung keine sichtbaren Veränderungen in der Eizelle hervor. Denn als Eier von 4 Uhr 15 Min. bis 4 Uhr 25 Min. in eine 0,1 % Lösung gebracht worden waren, wurden sie in normaler Weise befruchtet und teilten sich um 6 Uhr 10 Min. Das Gleiche trat ein, als die Einwirkung noch um 10 Minuten verlängert wurde. (4 Uhr 15 bis 4 Uhr 35 Min.)

Auch eine 0,2 % Chlorallösung wirkte nicht bei kurz bemessener Zeitdauer. Eier, welche in derselben 10 Minuten (4 Uhr 15 bis 4 Uhr 25 Min.) verweilten, zeigten reguläre Zweiteilung. Wenn die Lösung aber länger als 10 Minuten wirkte, so wurden Störungen hervorgerufen, wie die folgenden 3 Versuche lehrten.

1. Versuch. Die Eier verweilten von 11 Uhr 5 bis 11 Uhr 17 Min. in Chloralhydrat. Als nun Sperma hinzugefügt wurde, erfolgte bei den meisten normale Befruchtung; nur in eine kleine Anzahl drangen mehrere Samenfäden ein und veranlaßten unregelmäßige Furchung.

2. Versuch. Eine Anzahl Eier war drei und eine halbe Stunde in der Chlorallösung belassen worden. Trotzdem reagierten dieselben noch bei Zusatz von Sperma dadurch, daß sich die Eihaut abhob. Indessen trat überall Polyspermie ein. Denn um 4 Uhr zeigten sich in jedem Ei auf das deutlichste viele Spermakerne. Dieselben hatten an Größe zugenommen und waren bläschenförmig geworden. Zwischen ihnen war meistentheils der größere Eikern noch sichtbar, doch nur kurze Zeit. Um 4 Uhr 30 Min. war er geschwunden, wahrscheinlich weil Umbildung zur Kernspindel eingetreten war.

3. Versuch. In einem dritten Versuch ließen wir das Chloral von 11 Uhr 5 bis 3 Uhr 40 Min., also vier und eine halbe Stunde auf die Eier einwirken. Unter dem Mikroskop untersucht, noch ehe der Samen zugesetzt wurde, zeigten sich Veränderungen im Dotter. Derselbe war etwas grobkörnig geworden. Trotzdem hob sich bei der Befruchtung noch die Eihaut ab. Auch hier gab sich die Überfruchtung später auf das deutlichste dadurch zu erkennen, daß um 4 Uhr 30 Min. im Dotter viele bläschenförmige Spermakerne sichtbar wurden.

Zahlreichere Versuche wurden mit einer Chlorallösung von 0,5 $\frac{0}{0}$, deren Wirkung eine viel intensivere war, angestellt. Wir teilen hierüber 3 Versuche mit.

1. Versuch. Am 1. April wurde eine größere Quantität Eier in eine 0,5 $\frac{0}{0}$ige Lösung von Chloralhydrat gebracht. Nach verschiedener Dauer der Einwirkung wurden kleinere Portionen herausgenommen und befruchtet. Als nach 5 Minuten Samen hinzugefügt wurde, hob sich bei allen Eiern die Dotterhaut ab; doch war jetzt überall Polyspermie eingetreten (Tafel II, Fig. 1), welche man gleich von Anfang an den zahlreichen Befruchtungshügeln erkennen konnte. Infolge des Chloraleinflusses entwickelte sich indessen keine Spur von Strahlung in der Umgebung der eingedrungenen Samenfadenköpfe, auch war die ganze Weiterentwicklung eine außerordentlich verlangsamte. Denn selbst nach einer Stunde war der Eikern noch unverändert und deutlich zu sehen, ohne mit den Spermakernen verschmolzen zu sein (Tafel II, Fig. 2). Diese hatten währenddem an Größe zugenommen und sich durch Aufnahme von Flüssigkeit in Bläschen umgewandelt. Noch später verschwanden der Eikern und die Spermabläschen, und an ihrer Statt waren im Dotter zahlreiche, in verschiedener Weise angeordnete Strahlungen wahrzunehmen. Um 2 Uhr entwickelten sich gleichzeitig zahlreiche Einschnürungen und Höcker (Tafel II, Fig. 3), durch welche sich das Ei langsam und in unregelmäßiger Weise in viele kleine und größere Teilstücke nach dem Typus der Knospenfurchung auflöste.

Andere Eiportionen wurden nach 10, 20, 30, 40 und 50 Minuten aus der Lösung genommen und befruchtet. Auch jetzt noch hob sich in allen diesen Fällen die Eihaut unter Eindringen vieler Samenfäden vom Dotter ab. Desgleichen vollzogen sich die weiteren Veränderungen in der vorhin beschriebenen Weise, so daß etwa um 3 Uhr 50 Min. die Knospung erfolgte.

Wenn die Chloralwirkung noch längere Zeit dauerte, wurden

die Befruchtungserscheinungen etwas abgeändert. Bei einem Eiquantum, welches von 11 Uhr 20 bis 2 Uhr 30 Min. in Chloral blieb, hob sich bei der Befruchtung die Eihaut nicht mehr ab; gleichwohl waren viele Spermatozoen eingedrungen, sowie auch um 4 Uhr 50 Min. viele Spermakerne aus ihnen entstanden waren. Erst als die Eier 4 Stunden in Chloral verweilt hatten, waren sie nicht mehr befruchtungsfähig und wahrscheinlich abgestorben oder wenigstens im Absterben begriffen, da das Eiplasma sich verändert zeigte und grobkörnig geworden war.

Die von so zahlreichen Spermatozoen befruchteten Eier haben sich in einzelnen Exemplaren noch sieben Tage lang weiter züchten lassen. Am 2. April wurden in den Versuchsschälchen flimmernde Blastulae in großer Anzahl nachgewiesen; doch wichen sie von normalen Blastulae ab. Die Kugeloberfläche bestand aus einer einfachen Lage hoher flimmernder Cylinderzellen; anstatt mit Gallerte aber war das Innere mit größeren und kleineren kugeligen und glänzenden Körpern, welche wie Detritus aussahen, angefüllt. In dieser Weise waren viele Larven noch am folgenden Tage unverändert erhalten und flimmerten im Wasser herum. Bei anderen hatte sich die Zellschicht an einem Pole verdickt und etwas pigmentiert, am entgegengesetzten Pole abgeplattet, womit die Einleitung zur Gastrulation gegeben war, da die verdickte Stelle sich später einstülpte. Am 4. April zeigten sich zu unserer Überraschung im Wasser einige Pluteusformen mit Kalkskelet und braunen Pigmentflecken; teils sahen sie ziemlich normal aus, teils waren sie verkrüppelt. Zwischen ihnen flimmerten immer noch Blastulae herum, welche gegen früher nur die eine Veränderung erkennen ließen, daß auf ihrer Oberfläche mehrere braune Pigmentpunkte entstanden waren. Andere und zwar nicht wenige Larven waren abgestorben und zerfallen. Am 7. April, wo wir das Zuchtglas zum letzten Mal durchmusterten, waren noch Plutei am Leben.

2. Versuch. Am Sonntag, den 5. April, wurden Eier von 10 Uhr 25 bis 10 Uhr 50 Min. in Chloral gebracht und dann befruchtet. Es bildeten sich unter Abhebung der Eihaut viele Befruchtungshügel. Strahlung konnte im Innern des Dotters nicht gesehen werden. Um $2\frac{1}{2}$ Uhr erfolgte Knospenfurchung in viele kleinere und größere Stücke. Am folgenden Tage waren zahlreiche in der oben beschriebenen Weise abnorm gestaltete flimmernde Blastulae entstanden. Am Abend begann schon bei einzelnen die Gastrulation. Am Dienstag und noch mehr am Mittwoch schwammen viele Gastrulae, welche Gallerte und Kalknadeln auszu-

scheiden begonnen hatten, in dem Wasser herum. Währenddem waren einzelne Larven, welche sich am Grund des Uhrschälchens angesammelt hatten, zerfallen.

3. Versuch. Am Dienstag den 7. April wurde ein Versuch in der Weise ausgeführt, daß nach einer Chloraleinwirkung von 10 Minuten den Eiern außerordentlich stark verdünnte Samenflüssigkeit zugesetzt wurde. Die Eihaut wurde überall abgehoben. Viele breite Befruchtungshügel entstanden. Um 3 Uhr 15 Min. erkannte man im Dotter die zahlreichen Spermakerne als kleine, helle Flecke, aber noch ohne Spur von Strahlung in ihrer Umgebung. Dieselbe machte sich erst eine Viertelstunde später bemerkbar. Um 5 Uhr begann der Knospungsprozeß, aber in einer noch unregelmäßigeren Weise als bei Eiern, die zum Vergleich gleichzeitig mit Nicotin behandelt worden waren. Trotzdem kam es am folgenden Tag zur Entstehung von Blastulae, deren manche in hohem Grade pathologisch verändert waren. Denn den Flimmerkugeln hingen auf ihrer Oberfläche viele aus dem Verbande der übrigen ausgeschiedene Zellen und Zellenhaufen an, sowie auch im Innern der Kugel Detritus angesammelt war. Am Freitag lebten noch die mißgebildeten Larven, aus denen zum Teil Gastrulae geworden waren, und wurden von da nicht weiter gezüchtet.

5. Beeinflussung der Eier durch Chloroform.

Wie schon in der Einleitung hervorgehoben wurde, ist das Chloroform dasjenige Mittel gewesen, welches den Anstoß zu der vorliegenden Arbeit gegeben hat. Mit ihm hatten wir bereits schon während eines Aufenthaltes in Sorrent einige Versuche vorgenommen. Eier wurden in einem Uhrschälchen mit Meerwasser unter einer Glasglocke während fünf bis zehn oder fünfzehn Minuten der Einwirkung von Chloroformdämpfen ausgesetzt, befruchtet und darauf aus dem nach Chloroform riechenden Wasser in reines Meerwasser übertragen. Bei geringeren Graden der Chloroformwirkung hob sich von den Eiern die Dotterhaut ab, doch waren gewöhnlich zahlreichere Samenfäden eingedrungen, die im Dotter Strahlung hervorriefen und dadurch kenntlich wurden. Bei etwas stärkerer Chloroformierung war die Polyspermie eine beträchtlichere. Nach einiger Zeit hatte sich der Eikern oft bedeutend vergrößert, wie es auch bei längerer Chloralwirkung der Fall war, und waren die Spermakerne zu ziemlich großen oberflächlich gelegenen Bläschen geworden. Wenn die Chloroformwirkung zu stark war bei Anwendung während 15 bis 20 Minuten, starben die Eier

ab, wobei das Protoplasma eine eigenthümliche, glasige Beschaffenheit annahm. Bei Eiern, die im Stadium des Absterbens waren, haben wir bei Zusatz der Samenflüssigkeit oftmals eine nicht uninteressante Erscheinung beobachtet. Sie reagierten noch auf den Zusatz des Samens, indem sich die Eihaut abhob; alsbald aber begann der Dotter seine Beschaffenheit zu verändern, sich in einen Haufen von größeren und kleineren Kügelchen umzuwandeln und so zu zerfallen. Durch die Abhebung der Membran war der Prozeß des Absterbens unmittelbar veranlaßt worden.

In Nervi wollten wir die Versuche wieder aufnehmen, unterließen es aber bald, weil das Chloroform in seiner Handhabung weniger bequem und in seiner Wirkung weniger gleichmäßig war als Chloral, Nicotin und mehrere andere Mittel. Hierbei wurden wir aber auf eine neue Erscheinung aufmerksam gemacht. Wir suchten die Eier mit Chloroformwasser anstatt durch Dämpfe zu narcotisieren. Zu dem Zwecke schüttelten wir Meerwasser mit Chloroform, ließen sich das schwerere Chloroform absetzen und gossen nach mehreren Stunden die darüber stehende Flüssigkeit ab. Wenn nun Eier in diese gebracht wurden, so hob sich eine Membran augenblicklich vom Dotter weit ab, der sonst seine normale Beschaffenheit beibehielt. Wahrscheinlich wird diese Erscheinung dadurch veranlaßt, daß die im Wasser fein verteilten Chloroformteilchen, wenn sie mit der Oberfläche des Protoplasma in Berührung kommen, momentan einen heftigen Reiz auf dieselbe ausüben, ohne ein Absterben zu veranlassen, da sie nur einzelne Punkte treffen. Die anderen Mittel wirken als Lösung auf die ganze Oberfläche gleichmäßig und allmählich ein, da sie nur in starker Verdünnung angewandt werden können. Bei stärkerer Concentration töten sie sofort ab. Das angeführte Experiment ist deswegen von Interesse, weil es lehrt, daß eine Abhebung von einer Membran nicht bloß durch den normalen physiologischen Reiz eines befruchtenden Samenfadens, sondern auch durch passende chemische Reize hervorgerufen werden kann.

Weiter versuchten wir die mit Chloroformwasser behandelten Eier, bei welchen die Membran abgehoben war, durch Znsatz von Samen zu befruchten. Ein Erfolg trat nirgends ein. Kein Samenfaden drang in den Dotter ein. Aus dieser Thatsache läßt sich der Schluß ziehen, daß die Membran, wenn einmal abgehoben, dem Eindringen der Samenfäden ein Hindernis entgegensetzt.

6. Beeinflussung der Eier durch Cocain.

Da in den letzten Jahren das Cocain von den Pharmakologen und Ärzten als ein in hohem Grade betäubendes und die Nervenerregbarkeit herabsetzendes Alkaloid erkannt worden ist, hatten wir dasselbe, besonders durch Herrn Professor Binz veranlaßt, auch in das Auge gefaßt und verwandten es zu unseren Experimenten in Lösungen von 0,025, 0,05 und 0,1 %. Vom Chloralhydrat war es in seiner Wirkung etwas verschieden.

1) Lösung von 0,025 % Cocain.

Am 11. April wurde eine Partie Eier von 3 Uhr 20 Min. bis 3 Uhr 25 Min., eine andere Partie 15 Minuten lang in die Cocainlösung gebracht. Im ersteren Falle hob sich die Eihaut sofort ab, mehrfach ließ sich Überfruchtung konstatieren, indem hie und da 2 bis 4 Befruchtungshügel bei der Durchmusterung mit starker Vergrößerung nachzuweisen waren. In den meisten Eiern waren um 5 Uhr mehr als 4 Strahlungen, zuweilen deren 8 bis 10 vorhanden, und so erfolgte denn auch später nur in einer geringen Anzahl von Fällen reguläre Zweiteilung, meist aber Knospung in mehr als 4 Stücke.

Im zweiten Falle, bei der Einwirkung von 15 Minuten, wurde die Eihaut nur wenig und in Falten abgehoben (Tafel II, Fig. 11) und zwar zuerst und am meisten an denjenigen Stellen, an welchen sich ein Samenfaden eingebohrt hatte. In Folge der Polyspermie kam es später zu unregelmäßiger Knospenbildung.

Lösung von 0,05 % Cocain.

Nach Einwirkung von nur 5 Minuten drangen in die meisten Eier unter Abhebung der Eihaut 2, 3 und mehr Samenfäden ein. Nach kurzer Zeit wurde um die Spermakerne auch deutlich ausgeprägte Strahlung sichtbar. Schon um 3 Uhr 45 Min. trat Zellvermehrung ein. Nur wenige Zwei- und Vierteilungen wurden bemerkt, das gewöhnliche war Knospung in 5, 6 (Tafel II, Fig. 23), 8 und mehr Stücke. Der weitere Verlauf der Entwicklung gestaltete sich nicht ungünstig. Denn nach 2 Tagen waren Blastulae mit oft reichlicher Gallertausscheidung entstanden, zum Teil waren sie auch in Umwandlung zu Gastrulae begriffen. Am fünften Tage hatte die Gallertausscheidung bei vielen noch zugenommen. Die weitere Entwicklung wurde nicht verfolgt.

Lösung von 0,1 % Cocain.

Als Eier 10 Minuten (Mittwoch, 8. April, 4 Uhr 5 bis 4 Uhr 15 Min.) in der Lösung geblieben waren, hob sich die Eihaut beim Samenzusatz noch ab und es trat unter Bildung mehrerer Befruchtungshügel Polyspermie ein, die nach einer Viertelstunde sich am leichtesten konstatieren ließ, da viele deutliche Strahlungen um die Spermakerne entstanden waren. Um $6\frac{1}{2}$ Uhr begann der größte Teil der Eier Knospen zu treiben, während nur einzelne sich in zwei oder gleich in vier Stücke teilten.

Bei Einwirkung der Lösung während 15 Minuten wurde die Eihaut infolge der Befruchtnng schwach oder gar nicht abgehoben. Die Polyspermie führte nach derselben Zeit wie oben zur Vielknospung.

An diesen 2 Zuchten wurde die Entwicklung eine Woche lang verfolgt. Am Ende derselben standen die meisten Larven noch auf dem Blastulastadium mit mehr oder minder reichlicher Gallertausscheidung.

7. Beeinflussung der Eier durch Chinium sulfuricum.

Es ist bekannt, daß Chinin auf niedere Organismen in viel höherem Grade giftig wirkt, als auf höhere Thiere und daß schon eine dünne Lösung von 0,02 % Infusorien z. B. rasch abtötet. Desgleichen ist nach den Untersuchungen von Binz Chinin ein sehr starkes Gift für Lymphkörperchen. Auch auf die Eizellen wirken schon schwache Lösungen von 0,005 % giftig ein und rufen, wenn auch nicht den sofortigen Tod, so doch Störungen in dem Entwicklungsprozeß hervor. Die Experimente wurden mit einer Lösung von 0,05 und mit einer Lösung von 0,005 % angestellt.

1) Lösung von 0,05 % Chinium sulfuricum.

Am Freitag den 3. April wurden Eier in die Chininlösung gebracht und teils nach 5 Minuten, teils nach 10 oder 15 oder 20 Minuten herausgenommen und befruchtet.

a) Befruchtung nach 5 Minuten.

Überall hebt sich in normaler Weise die Eihaut ab. Meistenteils war die Befruchtung eine einfache; in einen kleineren Teil der Eier waren 2 und mehr Samenfäden eingedrungen. Nach $1\frac{1}{2}$ Stunden sah man daher hauptsächlich Amphiaster in den Eiern entwickelt,

zwischen ihnen noch ziemlich zahlreiche Tetraster und ab und zu auch Eier mit 5 und mehr Strahlungen. Am folgenden Tage zeigte sich an vielen Objekten keine nachträgliche Schädigung durch Chinin. Es waren viele typische, im Wasser flimmernde Blastulae mit Gallertkern und eingewanderten Mesenchymzellen entstanden, doch fanden sich auch auf dem Boden des Uhrgläschens eine Anzahl pathologischer, von Überfruchtung herrührender Blastulae.

b) Befruchtung nach 10 Minuten.

Bald war die Eihaut vollständig, bald nur wenig und in einzelnen Fällen gar nicht abgehoben. Mit wenigen Ausnahmen war jetzt Polyspermie eingetreten. $1\frac{3}{4}$ Stunden nach der Befruchtung sah man daher in den Eiern teils mehr als 2, teils sehr viele Strahlungen. Nicht selten waren derartige Befunde, daß etwas excentrisch im Dotter der Eikern mit 3 bis 4 Strahlungen an seiner Oberfläche lag und außerdem noch in der Dotterrinde zahlreiche isolierte, von Strahlung umgebene Spermakerne vorkamen, welche sich vergrößert und bläschenförmige Beschaffenheit angenommen hatten. Die aus dieser Befruchtung am folgenden Tage entstandenen Blastulae waren pathologisch, insofern sich in ihrem Innern glänzende Körner etc. angesammelt hatten und zuweilen auch ihrer Oberfläche einzelne Körner oder abgelöste Zellen anhingen.

c) Befruchtung nach 15 Minuten.

Bei der Mehrzahl der Eier hob sich die Dotterhaut nicht mehr ab, und in den wenigen Fällen, wo es geschah, nur schwach. Es erfolgte hochgradige Polyspermie. Nach einiger Zeit sah man gewöhnlich den Eikern in nicht unerheblicher Weise vergrößert und von mehreren Strahlungen umgeben, außerdem noch 4 bis 8 isolierte Strahlungen, von denen eine jede einen Spermakern umschloß, welcher durch Aufnahme von Flüssigkeit bläschenförmige Beschaffenheit angenommen hatte.

d) Befruchtung nach 20 Minuten.

Nirgends entwickelte sich jetzt bei der Befruchtung eine abstehende Eihülle. Nach 3 Stunden wieder untersucht waren viele Eier mit deutlichen Spermastrahlungen (Taf. II, Fig. 5) ganz dicht erfüllt, worauf es, allerdings zu sehr verschiedenen Zeiten, zur Knospung kam. Je später dieselbe eintrat, in welchem Falle wohl die Chininwirkung am intensivsten gewesen war, um so mehr wurden die absonderlichsten Figuren hervorgerufen (Taf. II, Fig. 4),

Die von vielen Kernen durchsetzten Eier streckten sich und nahmen die Form von unregelmäßigen Knollen an, die mit kleineren und größeren Höckern, in denen ein oder 2 Kerne lagen, bedeckt waren. Manche Höcker hingen mit der Hauptmasse nur durch einen dünnen Stiel zusammen. Am folgenden Tag waren die meisten Eier zerfallen, wenige hatten sich zu hochgradig pathologisch veränderten Blastulae weiter entwickelt.

2) Lösung von 0,005 % Chinium sulfuricum.

Wenn dieselbe nur während 5 Minuten einwirkte, entstanden nach zwei Stunden hauptsächlich normale Zweiteilungen, eine ziemlich beträchtliche Menge von Vierteilungen (wir schätzten dieselben etwa auf 10 %) und eine kleine Anzahl von unregelmäßigen Formen. Bei Einwirkung während einer halben Stunde beobachteten wir nur wenig Zweiteilungen, dagegen die Anzahl der Vierteilungen und der in Knospung begriffenen Eier vermehrt. An den folgenden Tagen entwickelten sich in den Zuchtgläsern aus diesem Material noch normale Blastulae und Gastrulae neben pathologischen Formen, denen abgelöste Zellen oberflächlich anklebten, oder deren Inneres mit Körnermaterial erfüllt war. Manche davon hatten durch einen Riß in der Zellenmembran die Körnermasse ausgeworfen und sich so in flimmernde unregelmäßige Zellscheiben umgestaltet.

Bei Eiern, welche 1 Stunde 15 Minuten in der schwachen Chininlösung gelegen hatten, wurde die Dotterhaut bei der Befruchtung immer noch abgehoben, doch erfolgte jetzt überall Polyspermie und Vielstrahlung. Die meisten so entstehenden Blastulae waren hochgradig verändert. Nach 6stündigem Aufenthalt in der Lösung fand sich kein einziges Ei mehr mit abstehender Dotterhaut. Nur in wenigen Eiern wurden später mehrfache Strahlungen beobachtet, in die übrigen war entweder kein Samenfaden eingedrungen oder er hatte, wenn es der Fall war, keine Reaktion mehr von Seiten des Dotters bewirkt. Am andern Tage war auch keine Zerklüftung eingetreten.

b. Beeinflussung der Samenfäden durch chemische Agentien vor der Befruchtung.

Um einen klaren Einblick in die Art und Weise, wie der Befruchtungsvorgang durch chemische Stoffe beeinflußt werden kann, zu gewinnen, mußten noch Versuche in Bezug auf die Samenfäden

vorgenommen werden. Wir haben daher dieselben, ehe sie zur Befruchtung verwandt wurden, der Einwirkung von verschiedenen Mitteln, wie Nicotin, Chloralhydrat, Strychnin, Chinin, Morphium ausgesetzt. Um die Wirkung zu beurteilen, hat man bei den Spermatozoen ein gutes Zeichen daran, ob die Bewegung des contraktilen Fadens verändert wird.

1. Beeinflussung der Samenfäden durch Nicotin.

Da bei Anwendung der schwachen Nicotinlösung, welche sich bei den Eiern schon so wirksam erwies, die Spermatozoen nicht zu reagieren schienen, wurde gleich mit einer 10 mal stärkeren Lösung, in welcher Eier bald absterben, experimentiert. Hierbei ergab sich eine große Widerstandsfähigkeit der Samenfäden gegen dies Mittel. Denn selbst Sperma, welches in die stark nach Nicotin riechende Lösung um 11 Uhr 25 Min. gebracht worden war, zeigte um 11 Uhr 40 Min. die lebhafteste tumultuarische Bewegung. Auch um 12 Uhr schien dieselbe nicht an Intensität verloren zu haben. Die Befruchtungsfähigkeit war noch eine vollständige. Um 1 Uhr bewegten sich die Samenfäden noch durcheinander, hatten aber in ihrer Fähigkeit zu befruchten etwas gelitten, doch nur in einer vorübergehenden Weise. Als nämlich Sperma zu Eiern, die sich in frischem Meerwasser befanden, zugesetzt wurde, schien in der ersten Zeit keine Befruchtung einzutreten, indem zwar die Samenfäden sich an die Oberfläche der Eier ansetzten, aber nicht eindrangen, wie denn auch die Abhebung der Eihaut nicht erfolgte. Nach zehn Minuten indessen mußte durch die Wirkung des reinen Meerwassers die Schädigung durch Nicotin beseitigt sein, da sich jetzt die Eihaut fast überall abhob. Um 1 Uhr 45 Min. war das gesamte Eimaterial vollständig und in normaler Weise befruchtet. Die Entwicklung ließ keine Störung erkennen; um 3 Uhr 25 Min. erfolgte überall die Zweiteilung.

2. Beeinflussung der Samenfäden durch Chloralhydrat.

In einer viel energischeren Weise, als das Nicotin, wirkt Chloralhydrat ein. Als in eine 0,5 % Lösung um 10 Uhr 10 Min. Sperma gebracht wurde, war die Bewegung schon nach 5 Minuten aufgehoben. Dieselbe kehrte jetzt indessen sehr rasch und lebhaft wieder, wenn reines Meerwasser zugesetzt wurde. Auch befruchteten die durch den vorübergehenden Aufenthalt in 0,5 % Chloral gelähmten Samenfäden, wenn sie zu Eiern zugefügt wurden, fast

ebenso bald als frischer Samen, wegen der in frischem Wasser rasch erfolgenden Beseitigung der Chloralwirkung.

Bei längerer Chloralwirkung wurde die hervorgerufene Lähmung eine stärkere und hielt längere Zeit auch nach Entfernung des schädigenden Mittels an. Sperma, welches um 10 Uhr 40 Min. (nach einer halben Stunde) aus der Chlorallösung herausgenommen wurde, blieb auch in reinem Wasser noch mehrere Minuten unbeweglich. Erst allmählich begann bei einzelnen Spermatozoen die schlängelnde Bewegung des Fadens und wurde dann rasch eine recht lebhafte. Auch die befruchtende Wirkung war jetzt für längere Zeit als bei der Einwirkung von 5 Minuten aufgehoben. Als um 10 Uhr 45 Min. Sperma, das 35 Minuten in der Chloralmischung war, zu Eiern hinzugefügt wurde, war selbst nach 10 Minuten (10 Uhr 55 Min.) bei keinem Ei die Dotterhaut abgehoben; es war mithin keine Befruchtung erfolgt, obwohl sich schon viele Spermatozoen wieder berwegten, auch den Eiern aufsaßen und besondere Bewegungen ausführten. Doch trat später noch überall Befruchtung ein. Als um 11 Uhr 20 Min. das Versuchsmaterial wieder kontroliert wurde, zeigte sich die Dotterhaut fast bei allen Eiern abgehoben und war Strahlung im Ei sichtbar. Relativ wenige Eier waren noch unbefruchtet. Um 1 Uhr begann sich das Material zu teilen, wobei ganz vereinzelte Vierteilungen sichtbar wurden. In Bezug auf letztere wird man aber wohl annehmen müssen, daß die abweichende Teilungsform durch eine Schädigung des Eies bedingt gewesen ist.

3. Beeinflussung der Samenfäden durch Chinin.

Wie Chloralhydrat, so wirkt auch Chinin in sehr intensiver Weise auf die Spermatozoen ein. Wir wandten die 0,05 $^0/_0$ Lösung an, welche wir auch bei der Untersuchung der Eier benutzt hatten. Dieselbe hatte schon nach 5 Minuten eine erhebliche Verlangsamung der Bewegung der Samenfäden zur Folge; proportional der Einwirkungsdauer des Reagens wurden die Bewegungen schwächer, bis sie nach 35 Minuten vollkommen aufhörten. Eine um diese Zeit vorgenommene Befruchtung war anfangs gänzlich resultatlos. Da aber hierbei die Spermatozoen aus der Chininlösung in frisches Wasser gebracht worden waren, lebten sie allmählich wieder auf; 10 Minuten nach dem durch die Befruchtung herbeigeführten Wasserwechsel waren sie noch gänzlich unbeweglich, nach weiteren 20 Minuten fingen sie an, schwache Bewegungen zu zeigen; auch traten hie und da vereinzelte Befruchtungen ein; immerhin waren auch

um 12 Uhr noch die meisten Eier unbefruchtet und erst um 1 Uhr war die Gesamtheit der Eier successive befruchtet. Ob stärkere Lösungen des Chinins dauernd die Lebensthätigkeit der Spermatozoen vernichten, haben wir nicht untersucht.

4. Beeinflussung der Spermatozoen durch Strychnin.

Wenn man Sperma in 0,01 % Strychnin überträgt, so leidet dasselbe anfänglich gar nicht. Nach 3 Stunden verlangsamte sich die Bewegung etwas, doch fällt diese Erscheinung nicht sehr in die Wagschale, da Sperma, welches längere Zeit im reinen Meerwasser gelegen hat, ebenfalls eine Einbuße an Lebensenergie erfährt. Wichtig ist, daß diese schwach beweglichen Spermatozoen immer noch vollkommene Befruchtung der Eier bewirkten. Die so befruchteten Eier entwickelten sich fast sämtlich normal weiter; wenn hier und da direkte Vierteilungen auftraten, so läßt sich das wohl schwerlich als Folge der Reagentienbehandlung, welche die Spermatozoen erfahren haben, betrachten.

5. Beeinflussung der Spermatozoen durch Morphium.

Morphium scheint auf die Spermatozoen ohne jeden Einfluß zu sein. Noch nach mehr als 1 Stunde lebten sie in einer 0,5 % Lösung unverändert weiter. Eine nach $\frac{3}{4}$stündiger Einwirkungsdauer vorgenommene Befruchtung ergab eine normale Entwicklung; nur äußerst spärlich führte sie zu Vierteilungen.

II. Abschnitt.

Über den Einfluſs von chemischen Agentien auf den Verlauf der Befruchtung.

Sowie bei normaler Befruchtung das Spermatozoon in das Innere der Eizelle eingedrungen ist, spielen sich daselbst eine Reihe von Vorgängen ab, welche für das Verständnis der Befruchtung wichtiger sind als alle vorangegangenen Erscheinungen. Der Kern des Spermatozoons und der Kern der Eizelle, Spermakern und Eikern, anfänglich weit voneinander getrennt, kommen einander immer näher und verschmelzen schließlich im Centrum des Eies zum Furchungskern. Beim Seeigelei dauert der gesamte

Prozeß etwa eine Viertelstunde, bei einigen Eiern etwas weniger, bei anderen etwas mehr, je nachdem der Ort, wo das Spermatozoon eingedrungen ist, dem Eikern mehr entfernt oder genähert liegt.

Darin, daß 2 kleine Körper in einer relativ ansehnlichen Substanzmasse stets einander finden und noch dazu in einer so kurzen Zeit, spricht sich eine wunderbare Gesetzmäßigkeit aus; es müssen in den für den Befruchtungsakt wichtigen Teilen bestimmte Kräfte wirksam sein, welche diese Gesetzmäßigkeit garantieren, deren Ermittelung nur auf experimentellem Weg herbeigeführt werden kann. Von vornherein sind drei Möglichkeiten gegeben: 1) Die Geschlechtskerne sind allein Sitz der regulatorischen Kräfte, indem sie aktiv, vermöge ihrer sexuellen Differenz, aufeinander zuwandern. 2) Die Kerne werden passiv von dem Protoplasma bewegt; die durch Aufnahme des Spermakerns ausgelösten Kontraktionen desselben treiben beide Kerne im Centrum einander zu. 3) Kerne und Protoplasma sind beide beteiligt, letzteres ist zwar vorwiegend in Aktivität, indessen besitzen die an und für sich passiv bewegten Kerne einen bestimmenden Einfluß auf die Art der Plasmakontraktionen.

Um die hier aufgeworfenen Fragen, wenn auch nicht zu entscheiden, so doch der Entscheidung näher zu führen, haben wir versucht, durch chemische Einwirkungen die inneren Befruchtungsvorgänge monospermer Eier abzuändern. Es galt uns dabei noch über einen zweiten Punkt Gewißheit zu erlangen, ob es nämlich möglich ist, die Vereinigung der Geschlechtskerne und damit den wichtigsten Teil der Befruchtungsvorgänge zu verhindern. Im bejahenden Fall mußte es von Interesse sein zu verfolgen, was dann aus den Kernen und den Eiern wird, welchen die normale Erledigung ihrer Functionen unmöglich gemacht worden war.

Zwei Umstände lenkten unsere Aufmerksamkeit auf die Anwendung bestimmter Reagentien, des Chinins und des Chlorals; einmal hatten wir bei den Untersuchungen über die durch Reagentien veranlaßten abnormen Furchungsvorgänge und polysperme Befruchtungen wahrgenommen, daß beide Substanzen in hohem Grade die Strahlungserscheinungen im Protoplasma herabsetzen, zweitens war für uns die Thatsache bestimmend, daß die Strahlung um den Spermakern bei den inneren Befruchtungserscheinungen so sehr in den Vordergrund tritt.

Wir haben nun mit der von uns am meisten benutzten 0,5 % Chlorallösung in folgender Weise experimentiert. Eine größere Menge frischer Eier wurde befruchtet; davon wurde die erste

Partie nach einer Minute herausgenommen und auf 10 Minuten in die Chlorallösung gebracht, eine zweite Partie wurde nach $1\frac{1}{2}$ Minuten, eine dritte nach 5, eine vierte nach 15 Minuten in die Chlorallösung übertragen, um daselbst ebenfalls 10 Minuten zu verbleiben. Nur die letzte Partie wurde über 10 Minuten, fast eine Viertelstunde lang im Chloral belassen. Wie auch sonst, wurde nach der Behandlung das Reagens durch wiederholte Erneuerung des Seewassers möglichst vollständig entfernt.

Da die einzelnen Serien zu sehr verschiedenartigen Resultaten geführt haben, werden wir den Entwicklungsgang einer jeden getrennt schildern.

1. Versuch. Vornahme der Chloralbehandlung 1 Minute nach Besamung der Eier.

Die Eier wurden früh 9 Uhr 50 Min. befruchtet, nach einer Minute in Chloral übertragen und eine kleine Anzahl sofort untersucht. Die Eimembran war überall abgehoben, dagegen keine Strahlung zu sehen, auch entwickelte sich dieselbe nicht in der Folgezeit; sämmtliche außerhalb des Eies und in den Eihüllen befindlichen Spermatozoen waren vollkommen bewegungslos. Auch als nach 10 Minuten das Chloral ausgewaschen wurde, trat lange Zeit über keine Strahlung auf.

Die ersten Eier wurden zur nachträglichen Untersuchung 10 Uhr 20 Min., also $\frac{1}{2}$ Stunde nach vorgenommener Besamung in Picrinessigsäure eingelegt. Im frischen Zustand erschienen sie, wenn wir von der Eimembran absehen, wie unbefruchtete Eier, indem sie nur den Eikern erkennen ließen. Nach der Behandlung mit Picrinessigsäure und der Färbung in Boraxkarmin trat dazu noch der Spermakern hervor, als ein ganz oberflächlich gelegener roter kleiner Körper, der nur wenig größer war als der Kopf eines Spermatozoons und sich außerdem von diesem dadurch unterschied, daß er kugelig sich abgerundet hatte (Tafel III, Fig. 14). Im Umkreis des Spermakerns war weder eine Anhäufung homogenen Protoplasmas, noch auch die geringste Spur von Strahlung zu bemerken. Der Eikern hatte seine normale bläschenförmige Gestalt verloren und hatte ein geschrumpftes Aussehen, als ob Flüssigkeit aus ihm ausgetreten wäre. Seine Kontur war zwar scharf gezeichnet, aber unregelmäßig ausgebuchtet; seine Lage war excentrisch mehr oder minder der Oberfläche genähert, bald in der Nachbarschaft des Spermakerns, bald weit von ihm entfernt.

Offenbar hatte somit die Befruchtung seit der Einlage in Chloral auch nicht den geringsten Fortschritt gemacht.

Für die richtige Beurteilung der späteren Studien ist es wichtig festzustellen, ob und wie viel Eier von mehr als einem Spermatozoon befruchtet worden sind; wir haben daher etwa 200 Eier genau durchgeprüft und kein einziges doppelt befruchtetes vorgefunden. An einigen wenigen konnten wir überhaupt den Spermakern nicht finden. Bei seiner oberflächlichen Lage ist er überhaupt um diese Zeit schwieriger nachzuweisen als auf späteren Stadien. So wäre es denn möglich, daß einige wenige disperme Eier vorhanden gewesen, aber nicht zur Beobachtung gekommen sind, weil der zweite Spermakern in Folge ungünstiger Lagerung übersehen wurde.

Während bei der Untersuchung im frischen Zustand die Eier um 10 Uhr 45 Min. (fast eine Stunde nach der Besamung) keine Veränderung aufwiesen, konnten solche an dem in Reagentien konservierten Material deutlich wahrgenommen werden (Taf. III, Fig. 15). Die Spermakerne waren größer geworden; die homogene Beschaffenheit hatte einem fein gekörnelten Ansehen Platz gemacht; ferner machte sich zum Teil wenigstens ein heller Hof im Umkreis bemerkbar, als ob sich eine geringe Spur Flüssigkeit zwischen Kern und Protoplasma angesammelt hätte. Unter etwa 60 Eizellen fanden sich 2 doppelt befruchtete, beidesmal war der eine Spermakern etwas kleiner als der andere. Der Eikern hatte sich nicht verändert, auch das gegenseitige Lageverhältnis beider Kerne war das nämliche geblieben.

Während der folgenden halben Stunde machen die Veränderungen des Spermakerns nach der soeben besprochenen Richtung weitere Fortschritte. Namentlich wird die Flüssigkeitsansammlung im Umkreis eine bedeutendere, so daß er schon im lebenden Ei 11 Uhr 20 Min. ($1\frac{1}{2}$ Stunden nach Befruchtung) als ein Bläschen auffällt, welches meist etwa halb so groß ist wie der Eikern. In einigen Fällen ist der Durchmesser geringer, in anderen Fällen wieder größer, je nachdem die Veränderungen einen langsameren oder rascheren Fortgang genommen haben (Tafel III, Fig. 16). Bei Reagentienbehandlung gleicht der Spermakern den Kernen, wie sie ab und zu bei Rhizopoden vorgefunden werden, z. B. bei Arcella vulgaris, er ist ein Bläschen mit einfachem, rundem Nucleolus geworden, nur mit dem Unterschied, daß letzterer, der eigentliche Spermakern, deutlich und gleichmäßig granuliert ist. Das gekörnelte Aussehen ist nun sehr wahrscheinlich nur der Ausdruck

einer netzförmigen oder fadenförmigen Struktur, wie sie in der Neuzeit wiederholt für das Innere von Kernen beschrieben worden ist, eine Annahme, zu welcher wir namentlich durch die Veränderungen auf späteren Stadien bestimmt werden.

Mit der Grössenzunahme hat die Intensität der Färbung abgenommen, als ob dasselbe Quantum färbbarer Substanz nun auf einen größeren Raum verteilt wäre. Immerhin ist der Körper noch intensiver gefärbt als das Protoplasma und die geformten Bestandteile des Eikerns.

Von Wichtigkeit sind feine Verbindungsfäden, welche zwischen dem nucleolusartigen Körper und dem umgebenden Protoplasma vorhanden sind und die Flüssigkeitsschicht durchsetzen. Hie und da treten solche Fäden vom Nucleolus herüber, stets äußerst zart und vollkommen farblos. Da sie infolgedessen schwierig zu erkennen sind, läßt sich über die Art ihrer Bildung nicht viel sagen; von Anfang scheint nur ein Faden da zu sein, mit Hilfe dessen der Spermakern an der Wandung seiner Kernblase befestigt ist, ähnlich einer gestielten Beere. Am schönsten haben wir den Faden bei dem Spermakern eines Eies gesehen, welches schon auf vorgerückterem Entwicklungsstadium stand. Wir erblicken in ihm dasselbe Element, welches wir früher einmal schon bei der normalen Befruchtung besprochen haben. Dort geht immer dem Spermakern die Strahlung voraus, sie schien um das Ende eines homogenen farblosen Fortsatzes gruppiert zu sein, welcher von der in Karmin rotgefärbten Hauptmasse des Kerns entspringt.

Damals sprachen wir uns schon für die Ansicht aus, daß im Spermakern 2 Substanzen seien, eine farblose schwierig nachweisbare und eine in Karmin stark sich imbibierende. In dieser Ansicht sind wir durch obige Befunde weiterhin bestärkt worden, noch mehr freilich durch eine Reihe anderer Beobachtungen, auf welche wir bei der Besprechung der späteren Stadien und der folgenden Serien noch einmal zurückkommen werden.

Der Eikern hat inzwischen wieder die Gestalt eines prall gefüllten Bläschens angenommen. Das Kerngerüst, eine farblose, feinkörnige, in Fäden angeordnete Masse, ist dadurch wieder deutlicher geworden; in ihm liegt fast stets ein homogener rundlicher Körper, ein aus achromatischer Substanz bestehender Nucleolus. Die Kontur ist fast in allen Fällen scharf gezeichnet. Von Ei zu Ei verglichen zeigen die Kerne verschiedene Durchmesser, einige sind nicht unerheblich größer als im reifen unbefruchteten Ei, so daß man den Eindruck gewinnt, als wäre die Menge des Kernsafts, nachdem

sie vorübergehend eine Verminderung erfahren hatte, wieder gewachsen.

Die Veränderungen des Eikerns sind bis zu einem gewissen Grad unabhängig von den Veränderungen des Spermakerns. Ersterer kann in seiner Entwicklung zurück sein, wenn der zugehörige Spermakern schon namhafte Fortschritte gemacht hat, und umgekehrt. Auch das Lageverhältniss beider Teile hat keinen Einfluß. Ob sie sich dicht bei einander befinden oder weit getrennt sind, ist für das Maß der inneren Umwandlungen bedeutungslos.

Schließlich sind noch einige Ausnahmen zu verzeichnen. Aeußerst selten sind die Fälle, wo Ei und Spermakern einander getroffen haben und zur Verschmelzung dicht aneinander gefügt sind, weniger selten sind andere Fälle, wo der Eikern anfängt, seine Membran zu verlieren, und wo im Kerngerüst die ersten chromatischen Körnchen sichtbar werden.

Die Zahl der Doppelbefruchtungen wurde an mehreren Präparaten bestimmt. In einem derselben waren etwa 60 Eizellen vorhanden, davon vier doppelt befruchtet, in den anderen war etwa das gleiche Verhältnis. Bei den dispermen Eizellen hatten meistens die zwei Spermakerne gleiches Aussehen.

Die bisher beschriebenen Veränderungen der beiden Kerne sind nicht sehr auffälliger Natur, indem selbst die bläschenförmige Umbildung des Spermakerns wenigstens ein Analogon findet bei den Eiern, welche noch vor der Bildung der Richtungskörper befruchtet werden. Von jetzt ab werden wir uns mit höchst überraschenden und interessanten Metamorphosen zu beschäftigen haben, welche nur schwierig und unter Anwendung von Reagentien zu erkennen sind.

Um 12 Uhr hatte die Untersuchung im frischen Zustand ergeben, daß bei den meisten Eiern kein Kern gesehen werden konnte und nur noch bei wenigen die beschriebenen zwei Kernbläschen erhalten waren. Auch die Anwendung von Pikrinsäure genügte vielfach zum Kernnachweis nicht, oder es wurden zwei getrennte undeutliche Kerne sichtbar oder zwei Kerne in Kopulation. Strahlung war nicht zu erkennen. Wir ließen die im Gange befindlichen Umwandlungen etwas weiter gedeihen und töteten um 12 Uhr 20 Min. eine größere Portion ab. Diese gefärbt und in Nelkenöl untersucht ergab eine Fülle verschiedener Bilder, welche sich aber, wie aus dem folgenden hervorgehen wird, zum größten Teil mit Leichtigkeit als verschiedene Stadien einer Umbildungsreihe deuten lassen. Wie es auch sonst zu sein pflegt und auch für die folgenden Se-

rien berücksichtigt werden muß, sind durch die Reagentienbehandlung die einzelnen Eier verschieden betroffen, so daß die einen sich rascher, die anderen langsamer entwickeln. Bei der Schilderung werden wir Ei- und Spermakern getrennt besprechen und mit ersterem beginnen, da er früher als der Spermakern der Metamorphose unterliegt und schon chromatische Schlingen erkennen läßt, wo dieser noch Bläschenform bewahrt.

Die erste Veränderung des Eikerns ist das Aufhören einer scharfen Umgrenzung und seine Reduktion in einen Körnerhaufen, der zum Theil achromatisch, zum Teil chromatisch ist. Die chromatische Substanz ist dabei in feinen Fäden angeordnet, welche nach Art der Fadenschlingen bei Kernteilung nicht selten U-förmig gebogen oder auch schwach geschlängelt sind.

Eine zweite Kernform wollen wir im folgenden die Fächerform nennen. Mit ihr beginnt die Umwandlung der achromatischen Substanz in feine Fäden, eine Anordnung, welche sich während der folgenden Stadien konstant erhält. Die Fäden, im wesentlichen alle untereinander von gleicher Größe, strahlen von einem Punkt nach einer Seite aus und bilden so ein Büschel, welches je nach der größeren oder geringeren Divergenz der Elemente die Gestalt einer Halbkugel oder eines Kegels annimmt; im Flächenbild gleicht das Ganze einem Fächer, welcher teilweise oder ganz ausgebreitet ist und in dem die einzelnen Spangen den Kernfäden entsprechen würden (cfr. auch Tafel V, Fig. 17—19, welche einer anderen Serie entnommen sind). Von einem seiner Enden aus gesehen zeigt der Kern ein strahliges Gefüge; bei einer bestimmten Einstellung des Mikroskops sieht man einen Stern achromatischer Fäden; verändert man ein wenig die Einstellung, dann tauchen je nach der Seite, von welcher man auf den Kern sieht, höher oder tiefer die chromatischen Schleifen und Körner auf (Tafel III, Fig. 17) in Form einer Anhäufung, die eine rundliche, gegen die Umgebung aber nur undeutlich abgesetzte Figur bildet. Da das gleiche Bild, wenn auch weniger klar, bei halb seitlichen Ansichten zu Stande kommt, so begegnet man ihm viel häufiger als dem zuerst beschriebenen, welches aber für das Verständnis der Figur von größerer Bedeutung ist.

Die chromatischen Schlingen, welche nicht selten ganz kurz sind und dann wie Körner aussehen, scheinen in bestimmten Lagebeziehungen zu den achromatischen Fäden zu stehen, derart, daß jedem Faden ein chromatisches Element entspricht, welches meist dem Ende desselben wie ein Stecknadelkopf aufsitzt und nur

selten den mittleren Partien angefügt ist. Im ersteren Falle liegen die Fäden weiter auseinander, im letzteren sind sie mehr zusammengedrängt.

Der fächerförmige Eikern geht nunmehr in eine Form über, welche wir den Pseudotetraster nennen wollen. Der Pseudotetraster hat wie der ächte Tetraster vier Ecken, unterscheidet sich aber von ihm dadurch, daß die letzteren nicht durch Spindeln miteinander verbunden sind. Von jeder Ecke aus geht ein Bündel divergierender achromatischer Fasern in der Richtung nach der Mitte des Kernes zu. Die vier Bündel müssen somit zusammenstoßen und in der mittleren Kernpartie eine wirre Anordnung gewinnen, indem sie sich ineinanderschieben (Taf. III, Fig. 13).

Ein weiterer Unterschied zum normalen Tetraster ist in der Anordnung der Chromatinschlingen gegeben; diese sind ebenfalls etwas wirr durcheinander gewunden, so daß es nicht zur Bildung von vier Kernplatten kommt.

Hie und da haben wir nun Zwischenformen zwischen Fächerform und Pseudotetraster aufgefunden. Denselben zufolge scheint der Punkt, von welchem die achromatischen Fäden des Fächers ausstrahlen, einen Pol zu bilden; an der Peripherie der Fächerfigur treten dann neue Pole auf, an welchen die faserige Struktur zunächst noch undeutlich ist, gleichzeitig vollzieht sich eine Umgruppierung der Chromatinschlingen. Ein solches Zwischenstadium ist in Fig. 18, Tafel III abgebildet.

Im Protoplasma, welches den Eikern umgiebt, ist auf dem geschilderten Stadium Strahlung selten nachzuweisen; wir haben sie nur einige Male an den Ecken des Tetrasters ganz schwach entwickelt gesehen.

Wir kommen nun zu den Veränderungen des Spermakerns. Derselbe hat vielfach noch die Gestalt eines Rhizopodenkerns und ist ein Bläschen mit relativ großem Nucleolus; das schon früher hervorgehobene körnige Aussehen desselben ist deutlicher geworden und läßt sich jetzt darauf zurückführen, daß der Kern aus einem Faden besteht, welcher in vielfache Windungen gelegt ist. Namentlich lieferten für diese Ansicht Kerne, welche durch Zertrümmern des in Nelkenöl spröde gewordenen Dottermaterials isoliert und für sich dargestellt worden waren, hübsche Beweise. Der Kernfaden ragte hier eine ganze Strecke weit über die Oberfläche frei hervor und ließ sich auch in die Windungen des Knäuels hinein verfolgen (Tafel III, Fig. 20 u. 21). An den hervorragenden Stücken konnte man ferner eine Struktur erkennen, welche an den

Kernfaden in den Speichelzellen der Chironomus-Larven erinnert. Der Faden ist bei Anwendung eines engen Diaphragmas gekörnelt; benutzt man aber den Abbe'schen Beleuchtungsapparat und schaltet die Diaphragmen aus, so daß man vorwiegend ein Farbenbild erhält, so zeigt das Präparat einen Faden von roten aneinander gereihten Körnchen. Es ist daher außerordentlich wahrscheinlich, daß der Faden aus achromatischer Substanz besteht, in welche chromatische Körnchen in unregelmäßigen Abständen eingelagert sind. Sind die Windungen des Fadens noch mehr gelockert, so verliert sich das Bild eines Nucleolus und der Faden ist in der Kernblase in viele mäandrische Windungen gelegt, so daß das Lumen derselben nach allen Richtungen hin durchzogen wird.

An den Spermakernen ist häufig, wenn auch nicht immer gleich deutlich Strahlung zu erkennen; bei einigen geht dieselbe nur von einem Punkt aus; bei anderen hat sich zur ersten noch eine zweite gesellt, welche jener genau gegenübersteht; endlich giebt es auch bläschenförmige Kerne mit drei Strahlungen, wobei dann das dritte Attraktionscentrum von den ersten beiden nahezu gleich weit entfernt auf einer der freien Seiten liegt.

Meist haben sich nun, wenn die zweite und dritte Strahlung aufgetreten sind, Form und Struktur des Kerns verändert (Tafel III, Fig. 12, 18, 19). Den Strahlungen entsprechend ist er ausgezogen, zu einem Oval, wenn zwei Attraktionscentren vorhanden sind, zu einem Dreieck, wenn sich deren drei ausgebildet haben. Die Flüssigkeitsansammlung ist auch geringer geworden oder ganz geschwunden und es beginnt die Sonderung der chromatischen und achromatischen Teile, daran erkennbar, daß in einer undeutlich faserig körnigen, aber ungefärbten Masse intensiv rot gefärbte Körner oder gebogene Fäden sichtbar werden.

Wiederholt haben wir beobachtet, daß schon der dreistrahlige Kern deutlich faserig differenziert ist; die chromatischen Schlingen sind dann zu einem kleinen kugeligen Körper zusammengedrängt; von den drei Kernecken gehen farblose Fäden aus, welche divergieren und so drei kegelförmige Figuren erzeugen, welche mit der Basis dem Chromatinhaufen aufgesetzt sind.

Mit ziemlicher Sicherheit können wir weiter behaupten, daß der dreistrahlige Kern mit der Zeit zu einem vierstrahligen wird. Wir haben nämlich wiederholt dreistrahlige Kerne gefunden, bei denen ein viertes Attraktionscentrum schwach entwickelt war (Fig. 19). Dasselbe lag merkwürdiger Weise in einiger Entfernung vom Kern im Protoplasma. Es scheint somit von außen an ihn heranzutreten.

Die Entwicklung einer vierten Strahlung führt den Kern in eine weitere Form über, welche wir der Aehnlichkeit mit einem Ordensstern halber das Ordenssternstadium nennen wollen. Das Chromatin ist auch hier wieder zu einem gekörnelten kugeligen Haufen zusammengedrängt, auf demselben sitzen aber nunmehr vier faserig differenzierte achromatische Kegel auf, meist so angeordnet, daß sie gemeinsam ein Kreuz bilden. Meistens sind die einzelnen Kegel oder die Flügel des Kreuzes von ungleicher Länge, wodurch die Anordnung der Teile eine unregelmäßige wird. Die Figur ist deswegen von besonderem Interesse, weil wir sie auch bei den später zu besprechenden Versuchsreihen wieder gefunden haben.

Außer der soeben geschilderten scheint es noch eine zweite Art und Weise zu geben, in welcher der bläschenförmige Spermakern in die Ordenssternfigur übergeführt wird. Häufig hat der nucleolus-artige Körper seine homogene Beschaffenheit beibehalten oder ist nur schwach granuliert; im Farbenbild (Tafel III, Fig. 12a¹) ist er intensiv gefärbt, zeigt aber 1, 2 oder 3 kleine Ausschnitte in seiner Peripherie, welche nichts anderes sind, als die basalen Enden von achromatischen Aufsätzen, welche in entsprechender Zahl vorkommen. Die achromatischen Aufsätze sind spitz zulaufende Kegel von verschiedener Gestalt, entweder kurz und breit, oder schmal und lang. Die Spitzen rühren an das die Kernvacuole umgebende Protoplasma (Fig. 12a²). Da die Substanz äußerst zart und durchsichtig ist, kann sie nur mit Anwendung der größten Sorgfalt wahrgenommen werden: man muß Oelimmersion bei vortrefflicher Beleuchtung und ein enges Diaphragma benutzen. Würde man annehmen, daß die homogenen Aufsätze sich in faserige Kegel verwandeln, so würde man ebenfalls eine Ordenssternfigur erhalten. Übergangsformen findet man genügend, wie die Figuren 12 b, c, d lehren.

Der Unterschied zwischen den beiden Arten der Umwandlung würde darin zu suchen sein, daß im ersten Fall sich die gesamte, aus achromatischen und chromatischen Teilen zusammengesetzte Substanz erst in einen Faden aufrollt und dann erst die Sonderung in achromatische Fäden und chromatische Körnchen erfolgt, während im zweiten Falle die Aufrollung des Fadens unterbleibt und die achromatischen Teile aus dem homogen bleibenden Nucleolus hervorwachsen. Die häufig zu beobachtende körnige Beschaffenheit des letzteren ist übrigens ein Beweis, daß zwischen beiden Arten der Umbildung keine scharfen Grenzen existieren.

Wir haben hier eine Anzahl von Formen geschildert, welche sich zwanglos in eine zusammenhängende Entwicklungsreihe einfügen lassen. Wir müssen aber dazu bemerken, daß sehr häufig auch undeutliche Bilder zur Beobachtung kommen, wo der Spermakern wie ein unregelmäßiger Haufen chromatischer und achromatischer Körnchen aussieht, daß ferner wir häufig uns vergeblich bemüht haben, an hochgradig differenzierten Kernen Strahlung zu erkennen. In solchen Fällen ist es schwer, Spermakern und Eikern zu unterscheiden und ferner schwer zu bestimmen, ob die Kernfiguren nicht gut genug conserviert sind, oder ob ein der Beobachtung ungünstiges Zwischenstadium vorliegt, oder ob der Kern hier einen anderen Weg der Differenzierung eingeschlagen hat. Jedenfalls handelte es sich aber auch hier um eine Umbildung des Kerns in einen faserigen Körper.

Zum Schluß der Besprechung des in Rede stehenden Entwicklungsstadiums sei noch hervorgehoben, daß man äußerst selten beide Kerne in Vereinigung findet. Wahrscheinlich waren hier dieselben gleich von Anfang an nur durch einen geringen Zwischenraum getrennt. Entweder sind die Kerne nur äusserlich aneinander gefügt oder vollkommen verschmolzen. In letzterem Fall entsteht ein Körper mit mehreren vorspringenden Ecken. Von den Ecken gehen achromatische Fasern aus; im Innern liegen unregelmäßig verteilte chromatische Schlingen.

Um 1 Uhr, somit 3 Stunden 10 Minuten nach der Befruchtung, wurde eine weitere Portion Eier abgetötet. Die Untersuchung im frischen Zustand hatte keinerlei Veränderungen im Aussehen der Eier ergeben, gleichwohl war fast überall eine Weiterentwicklung eingetreten, wie durch die Reagentienbehandlung erkannt wurde.

Sofern die Eier nicht infolge verlangsamter Entwicklung noch auf einem Stadium sich befanden, welches mit dem eben besprochenen identisch ist, war es nicht mehr möglich, Ei und Spermakern voneinander zu unterscheiden, da beide eine äußerst ähnliche Gestalt angenommen hatten. Beide waren etwas abgeplattet und hatten von der Fläche gesehen die Form eines ungleichseitigen Dreiecks mit abgerundeten Ecken. Jede Ecke war in einiger Entfernung umgeben von einem Kranz chromatischer Stäbchen, deren Anordnung man am besten überblickte, wenn der Kern gleichsam auf der Kante stand und man auf eine der Ecken von oben herab-

schaute (Tafel III, Fig. 22, Tafel IV, Fig. 1). Der Stäbchenkranz umgiebt eine helle kreisförmige oder elliptische Stelle; alle chromatischen Stäbchen sind so orientiert, daß sie mit dem einen Ende dem Mittelpunkt der hellen Stelle zu-, mit dem anderen von demselben abgewandt sind. Im Farbenbild liefern sie daher einen äußerst zierlichen rotgefärbten Stern. Von einem Stäbchenkranz zum anderen verlaufen feine achromatische Fäden den Rändern des Dreiecks parallel. Eine Ecke war reicher an chromatischen Stäbchen als die anderen, die vom Stäbchenkranz umgebene helle Stelle war langgestreckt, als ob sie sich in zwei Partien teilen wollte. In der That finden sich auch viereckige Figuren, bei denen zwei Ecken einander sehr genähert und nur durch ganz kurze achromatische Fäden verbunden sind. Wir glauben nun nicht, daß die eine dieser Figuren aus der anderen entstanden ist, sondern daß beides coordinierte Entwicklungsstadien sind, daß die Kerne die Tendenz haben, viereckige Figuren zu bilden, daß aber zwei Ecken einander meist genähert und zwar häufig bis zur Vereinigung genähert sind. Ungenügende Entwicklung einer der gleichsam im Entwicklungsplan vorgesehenen vier Ecken kann noch in anderer Weise bewirkt werden, wenn nämlich die achromatische Figur zwar ein ungleichseitiges Viereck ist, die vierte Ecke aber keine chromatischen Stäbchen enthält (Tafel III, Fig. 22).

Als Übergangsformen zu den soeben besprochenen Kernfiguren betrachten wir nun eine Reihe von Kernen, welche ein unregelmäßiges Ansehen haben und von denen man nur sagen kann, daß sie aus achromatischen Fasern und ungenügend orientierten chromatischen Stäbchen bestehen; anstatt einer Besprechung verweisen wir auf Figur 19.

Wesentlich häufiger als auf den früheren Stadien findet man beide Kerne vollkommen vereinigt. Die Figuren, welche in diesen Fällen entstehen, bilden ein vollkommenes Pendant zu dem, was wir von den getrennten Kernen schon kennen gelernt haben; ich schildere sie im Anschluß an einige Abbildungen und in der Reihenfolge, wie sie offenbar sich aneinander fügen.

In Figur 6b, Tafel IV sehen wir einen dreistrahligen Kern vor uns. Von drei Punkten ausstrahlend, treffen die achromatischen Fasern aufeinander längs dreier Linien, die durch die Lagerung der chromatischen Körnchen gekennzeichnet sind. Es kommt so zur Bildung einer in drei Schenkel ausgezogenen Mittelplatte, deren Deutlichkeit aber dadurch beeinträchtigt wird, daß hie und da noch chromatische Körner und Schleifen unregelmäßig zerstreut liegen.

Kerne mit endständigen Chromatinrosetten sind in Fig. 6a, Tafel IV und Fig. 23, Tafel III dargestellt; dieselben unterscheiden sich durch die Anzahl der Ecken, welche das eine Mal 3, das andere Mal 4 beträgt.

Drittens heben wir noch eine Figur hervor, welche sich vermittelnd zwischen die an erster und zweiter Stelle genannten Bilder einschiebt. Die Mittelplatte ist nicht mehr vorhanden, die Chromatinrosetten noch nicht entwickelt. Immerhin zeigen die etwas wirr durcheinander gekreuzten Chromatinstäbchen schon die Tendenz, sich zu Rosetten anzuordnen (Tafel III, Fig. 24).

Bei der Annahme, daß es sich hier um kopulierte Kerne handelt, stützen wir uns auf zwei Punkte; erstens war es trotz sorgfältigster Untersuchung nicht möglich, noch einen weiteren Kern nachzuweisen, zweitens war die Masse des Chromatins so bedeutend, wie sie in einem isoliert gebliebenen Sexualkern niemals beobachtet wird. Namentlich fällt das Gesagte an den Chromatinrosetten auf, bei denen nicht nur der periphere Kranz von Stäbchen zu sehen ist, sondern auch die centrale Partie von gefärbten Körnchen eingenommen wird.

Sehr eigenthümlich ist während der geschilderten Periode die Protoplasmastrahlung. In einigen Fällen haben wir überhaupt keine Protoplasmastrahlung wahrgenommen, lassen es aber unentschieden, ob dieselbe fehlte oder so schwach entwickelt war, daß sie an Canadabalsampräparaten nicht mehr wahrgenommen werden konnte. Meistenteils war sie, wenn auch nur mit der größten Aufmerksamkeit, nachzuweisen.

Man muß zweierlei Arten der Strahlungsfiguren unterscheiden, erstens Figuren, welche im Anschluß an die Kernpole sich entwickelt haben, zweitens Figuren, welche scheinbar unabhängig vom Kern frei im Protoplasma liegen. In Eiern, bei welchen keine Strahlung an den Kernenden entwickelt ist, begegnet man meistenteils reinen Protoplasmastrahlungen, welche sogar äußerst deutlich ausgeprägt sein können; sie sind stets in Mehrzahl, zwei oder drei vorhanden, bald durch einen geringen, bald durch einen ansehnlichen Zwischenraum vom Kern getrennt, sie können in demselben Ei von verschiedener Intensität sein, wie z. B. in Fig. 24, Tafel III und Fig. 2, Tafel IV eine starke und zwei schwache Strahlungen zu sehen sind; niemals läßt sich im Mittelpunkt ein Körper erkennen, welcher als Attraktionscentrum hätte wirken können; jede Strahlung besteht nur aus einer kleinen lichten Stelle homogenen Protoplasmas, um welche die Körnchen in radiären Reihen gruppiert sind.

Bei den Kernen, deren Chromatin entweder in die centralen Partien zusammengedrängt oder an den Polen in Rosettenform angeordnet ist, sind die Kernpole fast stets Mittelpunkte von mehr oder minder stark ausgeprägter Strahlung; daneben können reine Protoplasmastrahlungen fortbestehen oder, was häufiger der Fall ist, gänzlich fehlen.

Zu dem hier Mitgeteilten haben wir noch zu bemerken, daß zwischen den Eiern, bei welchen die Kerne getrennt sind, und denen, wo die Kopulation sich vollzogen hat, kein Unterschied in Bezug auf das Auftreten von reinen Protoplasma- und von Kernstrahlungen besteht. Die Unterschiede scheinen nur davon abzuhängen, in welchem Entwicklungszustand das Protoplasma und die Kerne sich befinden, gleichgültig ob dieselben sich vereinigt haben oder nicht. Manche Bilder weisen darauf hin, daß die Strahlungen zunächst im Protoplasma entstehen und dann an die Kerne herantreten. Der Spermakern hat z. B. anfänglich nur zwei Strahlungen; dann findet man zweistrahlige Kerne, in deren Umkreis ferner noch eine Protoplasmastrahlung liegt, weiterhin dreistrahlige Kerne mit einer im Protoplasma liegenden vierten Strahlung (Tafel III, Fig. 19), endlich vierstrahlige Kerne.

Die Eier mit faserig differenzierten Kernen mögen etwa die Hälfte des um 1 Uhr eingelegten Materials ausmachen, die andere Hälfte besteht aus Eiern, bei welchen bei der angewandten Konservierungsmethode es äußerst schwer ist, die feinere Struktur zu ermitteln. Viele liefern so undeutliche Bilder, daß erst durch das Studium anschließender Stadien ein Verständnis gewonnen werden kann. Ist man aber einmal so weit gelangt, so ergiebt es sich auch hier wieder von selbst, in welcher Weise man die einzelnen Bilder genetisch zu verknüpfen hat.

Mit ziemlicher Bestimmtheit können wir uns dahin äußern, daß Geschlechtskerne mit ausgebildeten Chromatinrosetten nicht kopulieren, sondern ein jeder für sich nach der Anzahl ihrer Ecken in Tochterkerne zerfallen. Wenn dabei benachbarte Ecken einander sehr genähert sind, so liefern sie einen gemeinschaftlichen Kern; wenigstens glauben wir das daraus schließen zu sollen, daß wir niemals vier Kerne, sondern jederseits nur drei oder sogar nur zwei vorfanden, während die rosettenförmigen Kerne drei oder vier Pole besaßen.

Im Verlauf des Teilungsprozesses tritt eine höchst eigentümliche dendritische oder hirschgeweihartige Figur im Protoplasma

auf (Tafel IV, Fig. 3, 4, 10); zwischen den einzelnen Kernen spannen sich faserig aussehende körnchenfreie Protoplasmastränge aus, welche sich nach der Eiperipherie hin verästeln und hier mit deutlichen Strahlungen enden. An dem konservierten Material ist die Struktur äußerst verschwommen, so daß wir sie in den meisten Abbildungen weggelassen und nur in zwei Figuren so genau, als es möglich war, dargestellt haben. Wir waren aber schon bei der Beobachtung im lebenden Zustand auf sie aufmerksam geworden und hatten von einem frisch in Pikrinessigsäure abgetöteten Ei während der ersten Momente der Reagentienbehandlung, wo das Objekt noch seine volle Durchsichtigkeit besaß, eine in Figur 4 wiedergegebene Skizze entworfen, ohne daß wir freilich damals gewußt hätten, in welcher Weise sich die Figur aus früheren Stadien entwickelt. Aus dieser Skizze und ferner aus dem Ergebniß, zu welchem wir bei der Untersuchung konservierter Eier gelangt sind, entnehmen wir, daß die dendritische Figur eine einheitliche ist und daß in ihr die Teilprodukte des Spermakerns und des Eikerns eingebettet sind, daß diese somit durch die Protoplasmastruktur in Beziehung zu einander gebracht sind. Letzteres ist deswegen von Wichtigkeit, als hierin vielleicht eine wechselseitige Beeinflussung beider zum Ausdruck kommt. Die Äste der dendritischen Figur scheinen nicht untereinander zu anastomosieren, abgesehen von den Stellen, wo früher die Mutterkerne lagen und die anfängliche meist dreieckige Gestalt derselben eine Masche von entsprechender Form bedingt.

Was nun die einzelnen Kernteilungsstadien anlangt, so sind die wichtigsten derselben folgende: 1) Die Formen beider Kerne sind noch an einer undeutlich faserigen drei- oder viereckigen Stelle im Protoplasma zu erkennen; wo die Chromatinrosetten lagen, finden sich Haufen kleiner Kernbläschen, welche sich nicht mehr färben und von der gekörnelten Umgebung daher kaum zu unterscheiden sind (Tafel IV, Fig. 3). Es ist dieses das undeutlichste Bild, welches überhaupt während der besprochenen Prozesse beobachtet wird. 2) Die Kernbläschen sind teilweise untereinander zusammengeflossen, so daß man entweder Gruppen von Kernbläschen oder schon bläschenförmige Kerne vor sich sieht, von denen letztere durch ihre gelappte Beschaffenheit und durch ihre innere Abteilung in einzelne Stücke den abgelaufenen Verschmelzungsprozeß noch bezeugen (Fig. 7 u. 8). 3) Es sind abgerundete kugelige oder gelappte Kerne vorhanden (Fig. 4 u. 10).

Man kann schon auf diesem Stadium zahlreiche Bilder

nachweisen, welche uns zum Schluß berechtigen, daß der Vereinigungsprozeß noch über das bisher geschilderte Maß hinaus sich verfolgen läßt, daß die aus verschmolzenen Bläschen entstandenen zwei oder drei Tochterkerne noch weiter untereinander verschmelzen und somit wieder einen einzigen Kern liefern, welcher entweder dem Spermakern oder dem Eikern entspricht. Wir verweisen hier zunächst auf die Figuren 7, 8. 12, 13 und 15, da wir auf dem folgenden Stadium diese rückgängige Umwandlung der Kerne noch genauer verfolgen werden.

Wo frühzeitig eine Kopulation der Geschlechtskerne stattgefunden und zur Bildung eines einheitlichen Kernes geführt hat, scheint die Weiterentwicklung in ganz analoger Weise abzulaufen, wie wir sie hier für die nicht konjugierten Kerne geschildert haben. Wir schließen das aus dem in Fig. 6c, Tafel IV abgebildeten Präparat. In dem Ei war ein großer Kern vorhanden, derselbe war dreifach gekerbt und zeigte auch im Innern eine Abteilung in drei Stücke. Nach Analogie mit den nicht konjugierten Kernen schließen wir, daß hier eine Dreiteilung mit Wiedervereinigung der Teilstücke stattgefunden hat. Wir machen zugleich darauf aufmerksam, daß hier ein Fall vorliegt, wo ein zweites Spermatozoon eingedrungen ist. Wir haben derartige Fälle häufiger beobachtet (z. B. auch in Fig. 19, Tafel III) und dabei das zweite Spermatozoon stets in der Entwicklung zurück gefunden.

Die Mannigfaltigkeit der Bilder, welche das besprochene Entwicklungsstadium liefert, wird noch weiter dadurch erhöht, daß einige wenn auch äußerst spärliche Eier sich in Teilung befinden. Die Teilung verläuft als Knospenfurchung unter Bildung von gänzlich pathologischen Kernspindeln. Wir werden sie genauer beim folgenden Stadium besprechen.

Der Rest des gesamten um 9 Uhr 50 Min. befruchteten Eimaterials wurde um 3 Uhr nach 5stündiger Entwicklung abgetötet, weil schon die Untersuchung im lebenden Zustand deutliche Protoplasmastrahlung und bei den meisten Eiern außerdem knospenförmige Teilung ergab.

Hatten wir schon bisher verfolgen können, daß in gleichem Maß, als die Entwicklung fortschreitet, auch die Mannigfaltigkeit der Bilder zunimmt, so gilt dieses ganz besonders von dem zu besprechenden letzten Stadium. Bedingt ist die Verschiedenartigkeit in erster Linie durch den verschiedenen Rhythmus, welchen die einzelnen Zellen einhalten. Bei allen unseren Untersuchungen, auch bei denen über Bastardbefruchtung, hat sich herausgestellt,

daß die Gleichmäßigkeit, welche die Eier bei normaler Befruchtung zeigen, sofort aufhört, wenn man abnorme Verhältnisse einführt, weil dann die Reaktionsfähigkeit der Zellen eine ganz verschiedene ist. Ein Teil wird durch Reagentien stärker, ein anderer schwächer gelähmt; viele erreichen daher ein Entwicklungsstadium, welches für andere schon früh abgelaufen ist, erst nach langer Zeit. Das hat nun aber wieder zur Folge, daß dieses Stadium unter Umständen andere Charaktere annimmt, weil die Veränderungen im Kern und im Protoplasma nicht in gleichem Maße behindert werden.

In zweiter Linie trägt zur größeren Komplikation der Erscheinungen der Umstand bei, daß bei einigen Eiern die Kopulation der Kerne eingetreten, bei anderen unterblieben ist, daß bei einigen jener Vorgang sich früher, bei anderen später vollzogen hat. Dabei spielen Zufälligkeiten eine große Rolle, ob das Spermatozoon in der Nachbarschaft des Eikerns eingedrungen war oder nicht.

Naturgemäß hätten wir nun die Eier in zwei Gruppen einzuteilen: 1. in solche, bei welchen eine Weiterentwicklung ohne Kopulation der Kerne eingetreten ist, und 2. in solche, welche diesen die Befruchtung abschließenden Vorgang durchgemacht haben. Hier ergiebt sich aber sofort die Schwierigkeit, daß man einem in Teilung begriffenen Ei nur in seltenen Fällen und auch dann nicht einmal mit vollkommener Sicherheit ansehen kann, ob es der einen oder anderen Kategorie angehört. Wir werden daher in folgender Weise verfahren; wir werden zunächst bei der Schilderung die Eier behandeln, bei denen eine größere oder geringere Sicherheit vorliegt, daß die Kopulation der Kerne unterblieben ist, und dann aus der Fülle anderweitiger Entwicklungsstadien einige besonders interessante zur Vervollständigung der Schilderung herausgreifen.

Zunächst haben wir noch die Stadien zu berücksichtigen, welche schon bei dem zuletzt behandelten Material vorhanden waren und die zu Gunsten der Ansicht sprechen, daß nach der Teilung eine Rekonstruktion von Ei- und Spermakern sich vollzieht. Solche Eier, zum Teil noch aus dem vorigen Stadium stammend, sind in der Reihenfolge, wie sie sich aller Voraussicht nach aneinander schließen müssen, in den Figuren 3, 4, 7, 8, 10, 12, 13 und 15, Tafel IV abgebildet. Ueberall sind in denselben die Teilprodukte eines jeden Kerns einander genähert und zu einer Gruppe vereint. Man begegnet nun Gruppen jederseits von drei Kernen oder drei Aggregaten von Kernbläschen, Gruppen, wo die eine aus drei, die andere aus

zwei Elementen besteht, Gruppen von jederseits nur zwei Kernen, endlich jederseits nur einem einzigen Kern oder einem einzigen Haufen von Kernbläschen. Die Distanzen zwischen den Kernen einer Gruppe sind wechselnd, in den Figuren 3 und 4 ziemlich bedeutend, in anderen Figuren so gering, daß die Kerne einander fast berühren. Wo zwei Kerne in einer Gruppe vorhanden sind, kann man zweifelhaft sein, ob hier nicht gleich von Anfang an zwei Kernenden so benachbart waren, daß bei der Umbildung die Kernbläschen untereinander verschmelzen mußten. Es wäre auch denkbar, daß eine Kernecke rudimentär entwickelt war. Wir sehen z. B. in Figur 8 auf einer Seite die dritte Ecke ganz schwach durch ein minimales Kernbläschen vertreten, auf der anderen Seite sie ganz fehlen. Die Aufstellung dieser Unterschiede ist jedoch für die prinzipielle Seite der Frage von keiner Bedeutung. Wir wissen, daß beim Eikern und Spermakern ursprünglich vier Ecken oder Attraktionscentren entwickelt sind; ob diese nun früher oder später eine Verminderung durch Vereinigung erfahren haben, ist gleichgültig.

Der Verschmelzungsprozeß der Teilprodukte wird nun am sichersten durch die Fälle bewiesen, wo jederseits nur ein Kern zu sehen ist. Derselbe ist dann häufig gelappt oder sogar aus größeren oder kleineren Kernbläschen zusammengesetzt; aus der Anwesenheit von Kernbläschen kann man aber mit ziemlicher Bestimmtheit die frühere Anwesenheit eines Teilungsprozesses erschließen.

Als weiter vorgeschrittene Fälle von Vereinigung betrachten wir die Eier, wo zwei glatt konturierte Kerne von gleicher Größe und Struktur nebeneinander vorkommen (Fig. 15). Der Kern ist denn auch keine Vacuole mehr, sondern ein fein granulierter, in Karmin aber immer noch schwach sich färbender Körper. Er ist von einer Zone undeutlich strahlig angeordneten Protoplasma's umgeben und wird zum Ausgangspunkt weiterer Veränderungen welche nun erst zu dauernder Kern- und Zellteilung führen. Zunächst reihen sich hier Eier an, bei denen die beiden Kerne in chromatischer Metamorphose begriffen sind (Taf. IV, Fig. 14). Durch Aufnahme von Flüssigkeit haben sie an Größe zugenommen; dadurch ist wieder das reticuläre oder faserige Gefüge der achromatischen Kernsubstanz deutlich geworden, und im Reticulum liegen feine, aber scharf umschriebene chromatische Körnchen oder Fadenschlingen. Einige Eier haben uns erkennen lassen, daß beide Kerne nicht notwendigerweise durchaus gleichzeitig sich verändern müssen, daß der eine weit vorgeschritten sein und sogar seine

scharfe Umgrenzung verloren haben kann, während der andere in der Entwicklung zurück ist. In einem Falle (Fig. 16) haben wir an jedem Kerne eine deutliche Strahlung aufgefunden, vielleicht ist sie auch sonst vorhanden gewesen und nur der Undeutlichkeit wegen übersehen worden.

Die Strahlung ist deswegen von Wichtigkeit, weil durch ihre Anwesenheit Anknüpfungspunkte an eine Reihe weiterer Kernformen geboten werden, zunächst an Kernformen, die auf's neue die schon von früher her bekannte Fächerform uns vor Augen führen. Dieselbe kam früher nur dem Eikern zu, ist aber jetzt bei beiden Kernen vorhanden und zugleich viel kräftiger ausgebildet, indem sowohl die von einem Punkt ausstrahlenden Fasern als auch die Schlingen viel reichlicher sind. Letztere sind manchmal in eine größere und eine kleinere Gruppe verteilt entweder bei einem oder bei beiden Kernen der Eizelle (Fig. 17 u. 18). Auch der Büschel achromatischer Fasern kann dann in entsprechender Weise eine Zweiteilung zeigen, die nun ihrerseits wieder sehr verschieden ausgesprochen ist, manchmal nur darin, daß das Ausstrahlungszentrum etwas in die Länge gezogen ist, während es ein anderes Mal zur Bildung von zwei völlig getrennten Strahlenkegeln kommt. In Figur 18 sind die zwei zusammengehörigen Strahlenkegel auf der einen Seite dicht bei einander, auf der anderen Seite durch einen kleinen Zwischenraum getrennt; in Figur 9 sind die Zwischenräume beiderseits ziemlich beträchtlich. So scheint ein jeder Fächer durch eine Längsspaltung in zwei Teile zu zerfallen und diese wiederum scheinen sich zu bläschenförmigen Kernen umzuwandeln; darauf deuten Figuren hin, wo sich zwei größere und zwei kleinere Kerne vorfinden (Fig. 19). Das Protoplasma ist hier entweder ungefurcht oder, wie in Figur 11, in drei oder vier freilich noch zusammenhängende Stücke abgeteilt.

Da die Unvollständigkeit des Teilungsprozesses wohl nur als eine Folge der durch Chloral bewirkten Protoplasmalähmung gedeutet werden kann, so scheint es den mitgeteilten Untersuchungen zufolge möglich zu sein, daß Eier, bei denen eine Verschmelzung der Geschlechtskerne ausgeblieben ist, gleichwohl sich furchen.

Wir haben jetzt noch die Eier zu berücksichtigen, bei denen es nicht hat festgestellt werden können, ob eine Verschmelzung der Kerne eingetreten war oder nicht. Dieselben zeigen eine Mannigfaltigkeit des Baues, daß man fast jedes Ei getrennt beschreiben müßte; wir beschränken uns daher auf die ganz kurze Beschreibung einiger weniger erläuternder Beispiele.

1. Ei ungeteilt; 1 großer Kern, 2 kleine Kerne; alle 3 Kerne undeutlich konturiert, undeutlich gefasert mit ausgeprägten Chromatinschlingen; mit einfacher Plasmastrahlung.

Derartige Eier scheinen öfters vorzukommen cfr. Fig. 7 Taf. V.

2. Ei ungeteilt, 1 großer zentraler Kern mit einem kleinen anhängenden Kern, beide undeutlich konturiert, in einiger Entfernung 2 weitere Kerne.

3. Ei ungeteilt, an 3 voneinander entfernten Punkten Anhäufungen von chromatischen Schlingen, eine jede mit einem Monaster ausgerüstet und in Zusammenhang mit achromatischen Fäden; die 1. Anhäufung bildet eine pentagonale Figur, die 2. Anhäufung besteht aus einem kleineren und einem größeren Komplex, die beide durch Vermittelung des Kegels farbloser Fasern zusammenhängen; die 3. Anhäufung besteht ebenfalls aus 2 Komplexen, die aber, wie es scheint, nicht mehr in Verbindung stehen.

4. Drei ungleich große, unvollkommen getrennte Teilstücke mit 3 großen und 3 kleinen Kernen.

Die vier hier kurz besprochenen Eier lassen sich vielleicht aus dem 3strahligen Kern ableiten, welcher nach der Verschmelzung von Ei- und Spermakern sich entwickelt hat. Man müßte annehmen, daß von den aus der Teilung des Triasters resultierenden Kernen ein jeder die Fächerform angenommen hat und daß vom Fächer sich eine kleinere Portion ablöste; so würden dann 3 große und 3 kleinere Kerne das Endresultat bilden.

5. Ei ungeteilt: ein einfacher undeutlich konturierter Kern, an einem Ende in einen zungenförmigen Fortsatz ausgezogen; Kernsubstanz aus chromatischen Fäden gebildet.

6. Ei ungeteilt; 4 größere und 1 kleinerer Kern.

7. Ei in 8 mehr oder minder deutlich abgesetzte Höcker erhoben; im ganzen sind 8 Kerne vorhanden; einer davon ist sehr groß und vierlappig; 4 sind von mittlerer Größe, 3 Kerne sind wesentlich kleiner. (Taf. V, Fig. 6).

Dazu kommen dann noch Eier mit äußerst undeutlichen Kernfiguren, bei denen hie und da im Protoplasma zerstreute Kerne, Haufen von Kernbläschen, Aggregate von chromatischen Schlingen sichtbar werden.

2. Behandlung mit 0.5 $^0/_0$ Chlorallösung $1\frac{1}{2}$ Minuten nach der Besamung.

Um 11 Uhr wurde eine neue Partie Eier befruchtet und $1\frac{1}{2}$ Minuten später der Chloralwirkung auf 10 Minuten ausgesetzt. Von dem Material wurden 5 Portionen eingelegt:

die erste um 11 Uhr 35 Min.,
die zweite „ 12 „ 0 „
die dritte „ 1 „ 30 „
die vierte „ 3 „ 15 „
die fünfte „ 4 „ 25 „

Über die ersten beiden Portionen können wir summarisch berichten, da sie an früher Beschriebenes erinnern. Der Eikern ist fast gar nicht verändert, nur etwas geschrumpft, der Spermakern liegt ziemlich oberflächlich und ist bei der ersten Portion wenig größer als der Kopf eines Spermatozoon, bei der zweiten Portion ist er bald wie bei der ersten, bald ist er etwas gewachsen und dann gekörnelt und nicht so stark gefärbt. Seine Gestalt ist entweder abgerundet oder in kleine Fortsätze erhoben. Strahlung fehlt.

In der zweiten Portion liegen beide Kerne ab und zu nahe bei einander; äußerst selten war die Vereinigung vollzogen. Der einfache Furchungskern erinnerte dann in seinem Aussehen an den Eikern, unterschied sich aber von ihm dadurch, daß das grobe Reticulum desselben ersetzt war durch eine fein gekörnelte Masse, welche durch einen lichteren Saum von der Umgrenzung des Kerns getrennt blieb. Gar nicht selten waren in der zweiten Portion Eier, bei denen 2 Spermatozoen eingedrungen waren.

Auf dem 3. Stadium sind die Veränderungen an Ei- und Spermakern in vollem Gang. Der erstere hat stets seine Umgrenzung verloren; wenn er trotzdem vom Protoplasma durch Zertrümmern der Eizelle leicht getrennt werden kann, so hat das seinen Grund darin, daß in seinem Umkreis meist ein heller Hof sich ausgebildet hat. Außerdem hat sich aber auch die innere Struktur verändert, indem die Sonderung in chromatische und achromatische Substanzen sich vollzogen hat. (Taf. V Fig. 2). Die letztere sieht entweder fein granuliert aus, oder sie hat die Struktur eines (oder mehrerer?) in Windungen gelegten Fadens, oder sie besteht aus einer großen Menge gerader und feiner Stäbchen, welche ihrerseits wiederum wirr durcheinander liegen können oder die ersten Spuren polarer Anordnung zeigen. Ist dann nur ein Pol vorhanden oder derselbe deutlicher ausgeprägt als die übrigen, so entstehen Bilder, welche an die oben beschriebene Fächerform erinnern. Äußerst selten sind 4strahlige Kerne, daß sie aber vorkommen, beweist Fig. 3 Taf. V.

Die chromatischen Teile sind meist Körnchen, bei denen es schwer fällt zu entscheiden, ob sie in den achromatischen Fäden eingeschlossen sind oder neben ihnen liegen. Letzteres ist nun

sicher der Fall, wenn — wahrscheinlich durch Verschmelzung der Körnchen — U- oder S-förmige Fadenschlingen sich gebildet haben.

Der Spermakern ist in jedem Ei, welches daraufhin geprüft wurde, vom Eikern zu unterscheiden, wenn auch sein Aussehen wechselt. Gewöhnlich erscheint er unter dem Bild eines in einer Kernvacuole eingeschlossenen Nucleolus (Taf. V Fig. 1 u. 2). An letzterem kann man dann sehr häufig eine linsenförmige achromatische Partie unzweifelhaft erkennen. Nächstdem am häufigsten sind die Zustände, wo im Umkreis die ersten Spuren einer achromatischen Struktur wahrnehmbar werden, wie sie in der Figur 1 in verschiedenen Ausbildungsgraden abgebildet sind. Der chromatische Kernteil ist dann entweder ein noch homogener, runder Körper, oder er ist schon in körniger Umwandlung begriffen. Äußerst selten zu beobachten und offenbar außer aller genetischen Beziehung zu den bisher besprochenen Zuständen ist die Auflösung des Spermakernes in einen aus chromatischen und achromatischen Teilen bestehenden Faden. Ebenfalls selten sind 4strahlige Spermakerne (Ordenssternform), was mit den beim Eikern gemachten Erfahrungen übereinstimmt.

Die nächste Portion Eier wurde um 3 Uhr 15 Minuten eingelegt, als sich bei einem Teil schon Knospungsfurchungen bemerkbar machten. Die meisten Eier waren noch ungeteilt und zeigten im Innern undeutliche helle, durch die Kerne veranlaßte Flecke oder dendritische Figuren. Das Intervall von $1\frac{3}{4}$ Stunden war leider etwas groß bemessen, so daß es schwer fällt, die Bilder, welche sich bei Reagentienbehandlung ergaben, mit den früher erhaltenen in Zusammenhang zu bringen.

Nach der Anzahl der Kerne wollen wir die Eier in 3 Gruppen besprechen: 1. Eier mit 1 Kern, 2. Eier mit 2 Kernen, 3. Eier mit mehr als 2 Kernen.

Wo nur 1 Kern vorhanden ist, kann es nicht zweifelhaft sein, daß eine Verschmelzung der Geschlechtskerne stattgefunden hat. Der konjugierte Kern ist dann meist polygonal und faserig differenziert, die achromatischen Fasern aber nur selten in deutlicher und regelmäßiger Weise nach den Polen orientiert; die chromatischen Teile sind als mehr oder minder ausgesprochene Schlingen unregelmäßig im Kern verteilt, oder, was das Seltenere ist, in Körnchengruppen vereinigt. Außerdem finden sich aber auch Eier mit einfachem, bläschenförmigem Kern, dessen Inneres von einem Netzwerk durchsetzt ist. Das Netzwerk ist schwach

oder gar nicht gefärbt, im letzteren Falle ist die Färbung durch Körnchen bedingt, welche in das achromatische Gerüst eingebettet sind. Man kann nun zweifelhaft sein, wie man diese Befunde deuten soll, ob man annehmen soll, daß die blasenförmigen Kerne hier im Begriff stehen, sich faserig zu differenzieren, oder ob dieselben umgekehrt aus faserig differenzierten durch Rückbildung hervorgegangen sind. Uns ist das erstere wahrscheinlicher.

Auf die gleichen Schwierigkeiten stößt man bei Betrachtung der zweikernigen Eier. Vielleicht mit wenigen Ausnahmen können wir es für sicher halten, daß die beiden Kerne den Ei- und Spermakern vorstellen; sie sind entweder unregelmäßig faserig differenziert (Taf. V Fig. 8) und dann chromatisch, oder sie sind Kernblasen mit einem Reticulum, in welchem einige wenige, gar keine oder eine größere Zahl von Chromatinkörnchen eingebettet sind (Fig. 9). Zwischen Faserkernen und achromatischen Kernblasen findet man alle Übergangsformen, nicht selten derart, daß bei einem der beiden Kerne die Umwandlung vollzogen ist, beim anderen noch nicht begonnen hat oder erst im Beginne steht. In einer früheren vorläufigen Mitteilung hatten wir die Verhältnisse so gedeutet, daß die faserig differenzierten Kerne aus direkter Umbildung von Ei- und Spermakern entstanden seien und daß die bläschenförmigen Kerne ein späteres Stadium darstellen, welches sich aus jenen durch regressive Metamorphose hervorgebildet habe. Jetzt ist uns die umgekehrte Reihenfolge wahrscheinlicher, namentlich im Anbetracht des Umstandes, daß seit dem 3. Stadium ein längerer Zeitraum verflossen war und es nicht anzunehmen ist, daß die Kerne fast 2 Stunden lang auf dem dort schon angelegten faserigen Zustand verharrt hätten. Wir halten es demnach für wahrscheinlicher, daß, wie bei der vorigen Serie, so auch hier eine Teilung von Ei- und Spermakernen sich inzwischen vollzogen hat, und daß die bläschenförmigen Kerne aus Rekonstruktion der Ei- und Spermakerne hervorgegangen sind, um sich von neuem nunmehr zu teilen und zu dem Zweck die faserige Metamorphose einzuleiten. Durch diese Annahme würde es möglich sein, die Ergebnisse der 2. Serie auf die der ersten und, wie wir gleich hinzusetzen können, auch der übrigen Serien zurückzuführen. Die Annahme findet auch darin eine Stütze, daß wir einmal ein Ei gefunden haben, welches die Fig. 5 Taf. V ergab: eine Gruppe von 3 kleinen Kernen und einen Haufen Kernbläschen. Es ist dasselbe Bild, welches wir schon von der Teilung der rosettenförmigen Kerne her kennen.

Bei einigen der 1- und 2-kernigen Eier, auf welche sich vorstehende Schilderung bezieht, war noch ein zweites Spermatozoon eingedrungen; dann fand sich noch ein weiterer, durch seine Beschaffenheit kenntlicher Spermakern vor. Derselbe war in einigen Fällen ein chromatischer Körper mit achromatischem Fortsatz oder er besaß die Ordenssternform.

In die 3. Kategorie gehören Eier mit 3, seltener mit 4 Kernen (Taf. V Fig. 10). Der 3kernige Zustand scheint immer aus einem 2kernigen hervorgegangen zu sein. Häufig findet man nämlich 2 Kerne, den einen kleiner, den anderen größer (Taf. V Fig. 9 *d*); letzterer ist dann eingekerbt, als ob er sich in 2 Kerne teilen wollte. Ich habe vergebens darüber Klarheit zu erhalten gesucht, ob hier einer der Geschlechtskerne ungeteilt geblieben ist, während der andere sich geteilt hat, oder ob der konjugierte Kern erst in 2 Kerne von ungleicher Größe zerfallen ist, von denen nun der größere sich abermals teilt.

Unsicherheit in der Deutung der Bilder herrscht auch bei den Präparaten, welche das letzte Material der in Rede stehenden Serie uns geliefert hat. Dasselbe war um 4 Uhr 25 Minuten, also 1 Stunde 10 Min. später und somit 5½ Stunde nach der Befruchtung eingelegt worden. Ein Teil der Eier war noch rund, ein anderer Teil durch Furchen eingeschnürt. Vielfach war auch jetzt nur 1 Kern vorhanden, dieser durch Einschnürungen in Lappen zerlegt, oder es fanden sich 2 und mehr Kerne von ähnlicher gelappter Form (Tafel V Fig. 11 u. 12). Ferner kommen chromatisch-faserig differenzierte Kerne vor. Im Farbenbild betrachtet, sah man Fadenschlingen, die wurmförmige, weit durch das Ei sich hinziehende Figuren erzeugten; dazu kamen bei Anwendung eines engeren Diaphragmas achromatische Fasern, welche ganz wirr angeordnet sein konnten. Ab- und zu war aber die Anordnung eine regelmäßige, dann entstanden fächerförmige Figuren.

3. Versuch. Vornahme der Chloralbehandlung 5 Minuten nach der Befruchtung.

Von den um 11 Uhr befruchteten Eiern war eine Portion 5 Minuten nach der Besamung einer 10 Minuten dauernden Chloralbehandlung unterworfen worden. Die Strahlung um den Spermakern hatte sich noch nicht ausgebildet und trat auch in der Folgezeit nicht auf. Vorübergehend nahm das Protoplasma ein fleckiges Aussehen an, als ob die Eier absterben wollten, doch ver-

schwand dasselbe wieder. Die Eier wurden in folgenden Zwischenräumen abgetödtet:

1. Portion um 11 Uhr 35 Min.
2. Portion um 12 Uhr
3. Portion um 2 Uhr 5 Min.
4. Portion um 4 Uhr 25 Min.

Zur Charakteristik der ersten beiden Portionen bedarf es nur weniger Worte. Strahlung war auch nach der Reagentienbehandlung nicht nachweisbar; die Vereinigung beider Kerne hatte sich nur in äußerst wenigen Fällen vollzogen, zu denen die in Figur 15 (Tafel V) abgebildeten Kerne gehören. Der erstere, aus Portion 1 entstammend, läßt noch die Substanz des Spermakerns als eine granulierte, matt rötliche Masse durch einen hellen Hof von der Substanz des Eikerns getrennt erkennen, welch letztere ein farbloses Reticulum bildet. Bei der 2. Figur, welche der 2. Portion angehört, sind beiderlei Substanzen zu einem feinkörnigen Haufen zusammengeflossen, welcher jedoch das Lumen der Kernblase nicht erfüllt und nach der einen Seite eine helle Randpartie frei läßt.

Bei den Eiern, wo die Befruchtung noch durch die Chloralbehandlung hatte verhindert werden können, war der Spermakern ein gekörnelter, in zackige Fortsätze ausgezogener Körper, der Eikern ein prall gefülltes oder schwach kollabiertes, häufig nur undeutlich konturiertes Bläschen mit retikulärer Anordnung der Kernsubstanz. Sehr häufig war der homogene rundliche Körper, der wie ein farbloser kleiner Nucleolus neben dem Reticulum liegt trotz aller Aufmerksamkeit nicht zu sehen. Die Abstände zwischen beiden Kernen waren meist ziemlich bedeutend, Doppelbefruchtungen waren selten aufzufinden.

Eine Fülle von Bildern lieferte die dritte Portion. Obwohl dieselbe über zwei Stunden nach der zweiten Portion abgetötet war, ließ sich der Zusammenhang mit derselben ohne Schwierigkeit herstellen, was zum Teil dadurch bedingt ist, daß einige Eier in dieser Zeit sich sehr langsam entwickelt haben, während andere ein schnelleres Tempo eingehalten haben.

Über die Beobachtung der Eier im lebenden Zustand haben wir in unserem Tagebuch bemerkt, daß sie häufig merkwürdige dendritische Figuren, deren Enden mit Strahlung versehen waren, zeigten; daß manche in ihrer Grundanordnung an die Hantelfigur erinnerten, daß einige Eier sich unregelmäßig einzuschnüren begannen.

Die Schilderung der Kernveränderungen ist im wesentlichen

dadurch erleichtert, daß sie in vielen Stücken denen gleichen, welche wir von der ersten Serie beschrieben haben, nur ist zweierlei hervorzuheben: daß zu den dort besprochenen noch eine Reihe weiterer Formen hinzukommt, und daß im allgemeinen der Spermakern in seinen Veränderungen noch mehr hinter dem Eikern zurückbleibt.

Eikerne mit farblosem Reticulum und mit Kernmembran sind nirgends mehr vorhanden, wohl aber begegnet man noch hie und da den undeutlich konturierten Körnerhaufen, in denen intensiv rot gefärbte Schlingen und Stäbchen liegen. Wiederholt haben wir sehr typisch entwickelte Fächerkerne gesehen (Tafel V, Fig. 16, 17, 18, 19). In Figur 17 divergieren die achromatischen Fächerspangen so sehr, daß ihre Enden eine gekrümmte Fläche bilden, welche weit größer ist als eine Halbkugel; diese Figur war zum Studium besonders geeignet, namentlich um zu zeigen, daß dem Ende einer jeden achromatischen Spange ein intensiv rot gefärbtes Korn oder Stäbchen ansitzt. Figur 18 ist dadurch von Interesse, daß sie uns die beginnende Umbildung des Fächers zeigt, indem an einer umschriebenen Stelle der Kernoberfläche einige achromatische Fäden sich erheben, welche nach der entgegengesetzten Seite convergieren. So wird ein Teil des Fächers zu einer Spindel ergänzt. Die Umbildung der Fächerform ist noch weiter gediehen in Figur 20, in welcher alle achromatischen Fäden sich über die chromatischen Teile hinaus verlängert und gruppenweise untereinander convergierend im Ganzen drei Spindeln erzeugt haben. Endlich kommen wir zu Fig. 21, welche die Fächerform gar nicht mehr erkennen läßt, welche aus vier in einem Zentrum vereinten Spindeln besteht, auf deren Fasern unregelmäßig verteilte chromatische Stäbchen sitzen. Ob nun hieraus durch Konzentration der achromatischen und chromatischen Teile der in Figur 22 abgebildete Kern entsteht, wagen wir mit Sicherheit nicht zu entscheiden, er könnte ja auch mit Umgehung der Fächerform direkt aus einer faserigen Umbildung des Eikerns entstanden sein, etwa aus einem Kern, wie wir ihn in Figur 16 kennen gelernt haben.

So wären wir zu einem vierpoligen Eikern gelangt, welcher weiterhin durch Verteilung des Chromatins an die Pole in die uns schon bekannte Rosettenform übergeführt wird. Verschiedene Stadien dieser Umlagerung sind in den Figuren 23—25 Tafel V dargestellt; in Figur 23 ist noch kein Pol durch Anhäufung von Chromatin ausgezeichnet, in Fig. 24 sind zwei, in Fig. 25 vier mit Chromatin versehene Pole; überall fehlt aber noch die regelmäßige rosettenförmige Grup-

pierung der Stäbchen, welche erst in den Figuren 26—31 erreicht wird. Unter diesen wiederum zeichnet sich ganz besonders Figur 30 durch die äußerst klare und regelmäßige Anordnung der chromatischen und achromatischen Teile aus. Wenn wir dieselbe analysieren, so haben wir zwei gekreuzte Spindeln, von denen die eine tiefer gelegen ist als die andere. Die Enden beider sind wiederum durch achromatische Fäden verbunden, welche einen schwach gebogenen Verlauf einhalten und bei der Lage der Spindeln in verschiedenem Niveau entweder auf- oder absteigen. Mit diesem aufsteigenden Verlauf hängt es zusammen, daß man die Chromatinrosetten nicht, wie man bei der Lage der Spindeln erwarten sollte, ganz seitlich, sondern nur in halber Profilstellung erblickt.

Die übrigen Figuren sind nicht so klar wie die geschilderte. Wenn die Pole z. B. nicht zwei und zwei einander scharf gegenübergestellt sind, gewinnen die Verbindungsfasern benachbarter Pole das Übergewicht über die gekreuzten Fasern (Fig. 26, 27). Oder ein Pol ist schwach ausgebildet (Fig. 31), so daß dann ein Übergang zu den früher geschilderten dreieckigen Figuren angebahnt wird. Umgekehrt kann es aber auch vorkommen, daß die Übersichtlichkeit der Anordnung durch Ausbildung einer größeren Anzahl von Polen gestört wird. Figur 32 zeigt fünf, Figur 33 sogar sechs Pole.

Vielfach hat auch die Deutlichkeit des Pseudotetrasters dadurch gelitten, daß die ersten Veränderungen an ihm sich vollzogen haben, welche zur Teilung führen. Die Stäbchen sehen dann wie verquollen aus oder sind sogar zu einem runden Körperchen zusammengeflossen. Zugleich ist ihre Imbibitionsfähigkeit geringer geworden, so daß dann die Ecken des Tetrasters nur als undeutlich rote Flecke erkannt werden können (Fig. 29).

Die Veränderungen, welche inzwischen der Spermakern erfahren hat, haben nicht mit den Veränderungen des Eikerns gleichen Schritt gehalten. Vielfach ist noch der aus dem Spermatozoenkopf hervorgegangene homogene, rundliche Körper von Chromatin zu sehen und im Umkreis desselben nur die erste Vorbereitung zu faseriger Differenzierung (wir verweisen auf die analogen Bilder der vorigen Serie, Tafel V Fig. 1). Undeutliche Streifung markiert rings um ihn herum ein viereckiges Feld, nach dessen einem Ende ein achromatischer Fortsatz vom Chromatinkörper ausgeht. Weiterhin begegnet man Figuren, wo die faserige Differenzierung schon entwickelt ist, der Chromatinkörper aber noch homogen ist,

endlich solchen, wo auch der letztere sich verändert und in einen Körnerhaufen umgebildet hat. So kommen wir zu der typischen Ordenssternfigur des Spermakerns. Bei derselben ist uns aber aufgefallen, daß von den früher beschriebenen Schenkeln meist einer schwach entwickelt ist oder sogar ganz fehlt, so daß ein Dreistrahler an Stelle eines Vierstrahlers resultiert. Die Erscheinung ist um so auffälliger, als der Eikern stets vier Pole, ab und zu sogar mehr als vier Pole besitzt.

Wie sehr nun der Spermakern in seinen Metamorphosen hinter dem Eikern zurückgeblieben ist, geht vor allem daraus hervor, daß wir nirgends bei ihm das Rosettenstadium vollkommen ausgebildet fanden. Höchstens waren, wie z. B. in der Figur 32 (Tafel V), die Anfänge zur Umlagerung des Chromatins festzustellen, indem die zentrale Chromatinmasse sich in Stäbchen gesondert und entsprechend den Kernecken, in Fortsätze ausgezogen hatte, oder indem einzelne Stäbchen mehr oder minder weit nach den Ecken vorgerückt waren.

Was wir bisher kennen gelernt haben, bietet im wesentlichen nichts Neues im Vergleich zu den Verhältnissen, welche wir bei der ersten Serie geschildert haben. Neu aber ist bei dem uns beschäftigenden Stadium, daß hie und da, wenn auch in seltenen Fällen, die beiden faserig differenzierten Kerne in Beziehung zu einander getreten sind, um, wenn benachbarte Lagerung es ermöglichte, eine einheitliche Figur zu erzeugen. Diese Vereinigung ist in drei verschiedenen Abstufungen in den Figuren 28 und 29 der Tafel V und Figur 4 der Tafel VI abgebildet. In der letzteren Figur liegen beide Kerne noch auseinander, aber vom Eikern geht ein undeutliches Streifensystem aus, welches mit dem Spermakern in Verbindung steht. In Figur 28 und 29 stoßen der dreipolige Spermakern und der vierpolige Eikern in einem Pole zusammen. Figur 6 der Tafel VI zeigt uns endlich eine Vereinigung beider Kerne zur Bildung einer einheitlichen Figur. Wir sehen einen großen Kern mit 6 Ecken vor uns, jede Ecke, durch die Chromatinrosette ausgezeichnet, sendet zu benachbarten Ecken achromatische Fasern und ist zugleich Ausgangspunkt einer schwachen Protoplasmastrahlung. Die Größe des Kerns und die Abwesenheit eines besonderen Spermakerns stellt die Deutung außer Zweifel, daß hier ein kombinierter Kern vorliegt, welcher wahrscheinlich dadurch entstanden ist, daß beide Kerne mit ein oder zwei Ecken sich vereinigt und eine einheitliche Anordnung der achromatischen Fäden gewonnen haben.

Strahlungsfiguren sind übrigens nicht nur bei konjugierten Kernen vorhanden, sondern schon viel früher. Da sie schwach ausgeprägt sind und somit leicht übersehen werden können, läßt sich über ihre Verbreitung nichts Sicheres aussagen. Ganz besonders ist uns aufgefallen, daß, wie bei der ersten Serie, die Strahlungszentren häufig in einiger Entfernung vom Kern liegen. Namentlich haben wir wiederholt gesehen, daß symmetrisch zum Spermakern zwei Protoplasmastrahlungen vorhanden sind. Indessen lehren die Figuren 29 und 30, daß auch die Kernecken mit Strahlung ausgerüstet sein können, die dann deutlicher beim Spermakern als beim Eikern ist.

Schon im Vorstehenden haben wir einen Fall kennen gelernt, bei dem es zu einer Vereinigung von Eikern und Spermakern gekommen ist. Wahrscheinlich waren hier beide Kerne, ein jeder für sich, metamorphosiert worden, ehe sie sich zusammengelegt hatten. Wie wir von der Beschreibung des früheren Stadiums wissen, kann aber schon viel früher die Kernvereinigung erfolgt sein. Dann entwickeln sich Bilder, wie sie in Figur 34 dargestellt sind, ein vieleckiger Kern in faseriger Umbildung mit chromatischen Fäden und mit mehreren Ecken, die in konische Erhebungen ausgezogen sind.

Seltener als die Eier mit faserigen Kernen sind Exemplare, bei denen die Entwicklung weiter vorgeschritten und die Kernteilung und sogar schon die Kernrekonstruktion eingetreten sind. Teilung kommt sowohl bei kopulierten, als auch bei getrennt gebliebenen Kernen vor. Im letzteren Falle entstehen Bilder, wie sie auf Tafel VI, Fig. 1—3 dargestellt sind, von denen die ersteren beiden der Erläuterung nicht bedürfen. In Figur 3 haben wir rekonstruierte Kerne vor uns, welche nun von neuem anfangen, die Teilung vorzubereiten, indem beiderlei Kernsubstanzen sich gesondert haben und die achromatische Substanz wirr angeordnete Fäden, die chromatische S- und U-förmige Schleifen und Schlingen gebildet hat.

Die analogen Veränderungen, nur mit dem Unterschied, daß ein konjugierter Kern vorliegt, erläutern auf derselben Tafel die Figuren 5, 7 und 8. In Figur 5 ist ein mit 8 Polen ausgerüsteter Kern in 8 Gruppen von Kernbläschen zerfallen, welche aber noch in ganz auffälliger Weise durch unregelmäßig faserige Streifen zu einer einheitlichen Figur vereinigt werden. Figur 8 stellt einen rekonstruierten Kern dar, bei welchem sich die ersten Anfänge der Sonderung in chromatische und achromatische Teile bemerkbar machen. In Figur 7 ordnen sich schon die achromatischen Fäden

nach unbestimmt ausgesprochenen Polen, wodurch auch die Lagerung der chromatischen Stäbchen bestimmt wird.

Schon während der geschilderten Vorgänge hatten Kontraktionen des Protoplasma zu unbedeutenden Gestaltveränderungen der Eizelle geführt; von 4 Uhr ab beginnen Furchungserscheinungen aufzutreten, welche im Laufe der nächsten Stunde wenigstens einen großen Teil der Eier in Teilstücke von ungleicher Größe zerlegen, die aber fast stets noch durch Plasmabrücken zusammenhängen. Obwohl wir zahlreiche Eizellen auf das genaueste studiert und sogar abgezeichnet haben — einige davon liegen den Figuren 9—11 auf Tafel VI zu Grunde —, ist es uns nicht geglückt, einen Zusammenhang in die einzelnen Formen zu bringen, und begnügen wir uns daher, das Wichtigste, was uns im allgemeinen aufgefallen ist, hervorzuheben.

Was zunächst die Teilung anlangt, so haben wir schon bemerkt, daß sie eine unvollkommene und äußerst ungleichmäßige ist. Einmal schwankt die Zahl der Teilstücke von 2 bis 10 — dazu kommen noch gänzlich ungeteilte Eier —, außerdem sind aber auch die Teilstücke variabel; in einem 7-geteilten Ei z. B. sind 5 kleine und 1 mittelgroßes Stück neben einem die Hälfte des Eies repräsentierenden großen Teilstück vorhanden.

Zwischen der Zahl der Kerne und der Zahl der protoplasmatischen Teilstücke herrscht keine Proportionalität. Eier ohne jede Einfurchung der Oberfläche können 4 Kerne enthalten, während bei Eiern, welche in Zweiteilung begriffen sind, der Kern nur als ungeteilte lappige Masse auf der Grenze der Teilstücke liegt. Damit hängt es zusammen, daß Teile des Eies sich ohne Kern abschnüren können; wir beobachteten einmal sogar ein vollkommen losgelöstes Stück ohne das geringste Quantum von Kernsubstanz. Ein solches Stück würde im weiteren Verlauf sicherlich nicht lebensfähig geblieben, sondern zerfallen sein, woraus sich wohl das Auftreten des krümeligen Inhalts bei den früher besprochenen Stereoblastulae erklärt.

Überall hat uns die ganz unverhältnismäßige Massenzunahme der Kernsubstanz, speziell der chromatischen überrascht, selbst bei Eiern, wo nur 1 Kern vorhanden war. Es scheint, daß bei der durch Chloral bedingten Herabminderung der Geschwindigkeit in allen Entwicklungsprozessen die Fähigkeit der Kernsubstanz, durch Assimilation sich zu vergrößern, gar nicht oder doch nur wenig alteriert worden ist, so daß vielleicht die gleiche Menge Kernsubstanz in ungeteilten Eiern vorhanden ist, wie sie den normal

entwickelten Eiern zukommt, welche sich in einem entsprechenden Zeitabschnitt schon auf einem vorgerückten Morulastadium befinden.

Wenn wir auf die Figuren der Kerne achten, so sind gut ausgebildete Spindeln äußerst selten; wo sie vorkommen, sind sie meist ganz auffällig groß, vielfach größer als die in Fig. 9 Taf. VI abgebildete, und außerordentlich reich an dicht aneinander gefügten Spindelfasern und dementsprechend auch reich an Chromatinstäbchen, welche eine ansehnliche Kernplatte erzeugen und nicht selten den Charakter von Schlingen annehmen. Gegen das Protoplasma sind die Spindeln scharf abgesetzt, was vielleicht darin seinen Grund hat, daß die Strahlung im Protoplasma sehr schwach ist. Die Spindeln sind entweder einzeln oder zu Komplexen vereint, indem 3 oder mehr mit ihren Enden zusammenhängen und ab und zu ganz unentwirrbare Massen erzeugen.

Um so häufiger sind Halbspindeln oder, wie wir sie früher genannt haben, fächerförmige Kerne. An ihnen fällt die Massenzunahme der Kernsubstanzen ganz besonders auf; man vergleiche nur in dieser Hinsicht die Fig. 9 und 10 auf Taf. VI und Fig. 14 auf Taf. V. Die achromatischen Fasern sind so massenhaft, daß sie eine von einem Punkt ausstrahlende Schraffierung veranlassen; diese endet an einem dicken Polster chromatischer Kernsubstanz. Sieht man zufällig auf das Ende der Halbspindel herab, so löst sich das Polster in eine Menge wurmförmig gekrümmter Chromatinstäbchen von nahezu gleicher Länge auf (Fig. 9).

Auch Kerne mit polständigen Chromatinrosetten kommen vor. Das in Fig. 11 (Taf. VI) dargestellte Ei zeigt 4 Kerne, an denen die rosettenförmige Anordnung in der Entwicklung begriffen ist. Das Ei ist auch insofern von Interesse, als es Plasmastrahlungen, unabhängig von Kernenden, wie wir sie wiederholt beschrieben haben, enthält. Wir sind versucht, in diesem Falle die 4 Kerne aus Teilung der unverschmolzenen Geschlechtskerne abzuleiten.

Ebenfalls nicht selten sind wurmförmige Kerne, d. h. Kerne, welche abgerundete, höckerige, längliche Körper bilden, welche sich sogar etwas verästeln können. Die Substanz ist hier faserig differenziert in achromatische Fäden von wirrer Anordnung, in welche hie und da Haufen chromatischer Schlingen eingebettet sind.

Es ist selbstverständlich, daß dazwischen auch Eier mit ruhenden bläschenförmigen Kernen vorkommen; sehr häufig sind fast sämmtliche Kerne eines Eies bläschenförmig und nur durch Größe von einander unterschieden. Endlich ist es auch selbstverständlich, daß Übergangsformen zwischen faserigen und bläschen-

förmigen Kernen wahrgenommen werden; das sind dann Kerne, in deren farblosem Reticulum chromatische Körner und Fäden auftreten.

III. Behandlung der Eier mit Chloral 15 Minuten nach der Besamung.

Die letzte Portion Eier wurde der Einwirkung des Chlorals ausgesetzt, nachdem sie schon eine Viertelstunde vorher besamt worden waren. Die Einwirkungsdauer wurde zufällig etwas mehr ausgedehnt als gewöhnlich und erstreckte sich fast auf eine Viertelstunde.

Als die Chloralbehandlung begann, war natürlich die Spermastrahlung schon stark entwickelt und hielt auch noch 15 Minuten lang an, dann aber bildete sie sich allmählich zurück und war nur noch in Resten zu erkennen, als das erste Quantum zur Untersuchung um 11 Uhr 35 Minuten, also 35 Minuten nach der Besamung abgetötet wurde. Bei der Untersuchung ergab sich folgendes Resultat: Fast überall war die Vereinigung von Ei und Spermakern vollzogen, doch so, daß die Substanzen beider noch deutlich unterschieden werden konnten. Der Eikern bildete ein ganz farbloses Bläschen, auf dessen einer Seite die matt rosa gefärbte, schwach granulierte Substanz des Spermakerns eingelagert war. Sie hatte offenbar durch Flüssigkeitsaufnahme schon an Volumen beträchtlich zugenommen und erschien wie eine halbmondförmige Verdickung der Wandung des Kerns eingebettet, so daß dieser an einen Siegelring erinnerte. Das Reticulum des Eikerns selbst war bei einigen Eiern auf eine beschränkte Stelle zusammengedrängt und durch einen hellen Zwischenraum von der Spermamasse getrennt; das homogene Körperchen (Nucleolus) war noch erhalten. An dem Ende, wo der Spermakern dem Eikern eingelagert war, fand sich eine Anhäufung homogenen Protoplasmas und um dieselbe herum waren die Protoplasmakörnchen unregelmäßig streifig angeordnet (Tafel VI, Fig. 13 u. 14). So entstanden zwei Strahlenbüschel, welche links und rechts mit ihren Spitzen an die Kernoberfläche stoßen, da wo die Substanz des Eikerns und die des Spermakerns aneinander grenzen. Ab und zu war die Vereinigung beider Kerne schon seit längerer Zeit vollzogen und dann war auch die homogene Protoplasmaansammlung geschwunden; in Folge dessen war die ganze Seite des Furchungskerns, in welcher der Spermakern eingebettet lag, gleichmäßig von einer deutlichen Strahlung umgeben. Die Anhäufung homogenen Protoplasmas er-

klärt sich aus der Betrachtung der äußerst seltenen Fälle, in denen die Kopulation der beiden Kerne sich noch nicht vollzogen hatte (Tafel VI, Fig. 12). Der Spermakern lag dann als eine granulierte, matt rosa gefärbte Kugel nahe dem Eikern inmitten einer Straße homogenen Protoplasmas, die an diesen heranführte. Auch hier waren die Protoplasmakörnchen in Reihen gestellt, welche links und rechts von der homogenen Straße deutlich nach dem Eikern zu konvergierende Büschel erzeugten.

Denselben gleichförmigen Charakter ergaben Eier, welche ½ Stunde später abgetötet worden waren. Die Kopulation der Kerne war weiter vorgeschritten, so daß man keinen Unterschied zwischen der Substanz des Eikerns und des Spermakerns mehr machen konnte. Fast ausnahmslos enthielt das Ei ein rings scharf umschriebenes Kernbläschen, dessen feste Bestandteile fast ganz konzentriert waren auf eine rundliche granulierte, in Karmin sich nicht mehr färbende Masse, welche das Innere des Bläschens etwa zur Hälfte erfüllte und neben der sich das homogene Korn noch diskret erhalten hatte. Seltener sind mehrere granulierte Anhäufungen in einer Kernblase zu sehen. Im Protoplasma sind keine Reste von strahliger Anordnung erhalten.

Als Ausnahmen haben wir auch hier wieder einige Eier zu verzeichnen, bei denen Eikern und Spermakern sich getrennt erhalten hatten. Man kann sich von denselben eine Vorstellung bilden, wenn man sich die Figur 12 auf Tafel VI der Protoplasmastrahlung entkleidet denkt.

Im Gegensatz zu dem bisher Beschriebenen bietet die folgende Eiportion, welche um 2 Uhr 30 Min. (nach 3½ Stunden) abgetötet worden war, eine Fülle von Bildern, zwischen denen aber unzweifelhaft ein genetischer Zusammenhang herrscht. Sehr häufig sind Eier, bei denen ein einziger rosettenförmiger Kern besteht; derselbe ist im Prinzip ebenso gebaut, wie die rosettenförmigen Ei- und Spermakerne, welche wir auf den vorigen beiden Stadien schon kennen gelernt haben; nur ist der Kern größer, die Zahl seiner Ecken bedeutender. Gewöhnlich sind 8 Ecken vorhanden, welche untereinander durch achromatische Fäden verbunden und von einem Kranz chromatischer Stäbchen umgeben sind. Die Zahl der Stäbchen innerhalb eines Kranzes ist in diesen Fällen ziemlich gleich für alle Ecken (Taf. VI, Fig. 19 u. 21). Wo nun aber Kerne mit 5, 6 oder 7 Ecken gegeben sind, sind 2 oder auch nur 1 insofern stärker ausgebildet, als dann eine besonders große Zahl von gefärbten Stäbchen die betreffende Ecke umlagert (Fig. 22).

Ziehen wir diese Verhältnisse in Betracht und berücksichtigen wir ferner, daß Ei- und Spermakern gewöhnlich 4-eckige Rosettenkerne entwickeln, wenn sie an der Vereinigung verhindert werden, so werden wir zur Annahme geführt, daß in allen diesen Fällen zwar eine Vereinigung der Geschlechtskerne stattgefunden hat, aber mit mehr oder minder vollständiger Durchdringung der Substanzen. Wenn 7 Kernecken vorhanden sind, enthält wahrscheinlich nur die eine, stärker entwickelte Ecke männliche und weibliche Chromatinteile. Demgemäß müßten wir für die 6-eckigen Figuren eine etwas fortgeschrittene, für die 8-eckigen eine weniger innige Vereinigung der Kernsubstanzen annehmen. Im letzteren Falle würde der Zusammenhang von Ei- und Spermakern nur durch die achromatischen Bestandteile des Kerns vermittelt werden. Da für die Befruchtung das Verhalten der Kerne allein von Bedeutung ist, so könnte man hier von einer unvollkommenen — oder um einen trefflich gewählten Ausdruck Pflüger's zu benutzen — von einer fraktionierten Befruchtung sprechen.

In welcher Weise sich um diese Zeit das Protoplasma durch Strahlung beteiligt, haben wir nicht mit genügender Sicherheit ermitteln können. Im lebenden Zustand zeigten die Eier die früher besprochenen dendritischen Figuren, über die wir in unseren Notizen aufgezeichnet haben, daß sie in ihrer Grundanordnung an die Hantel erinnern; am eingelegten Material haben wir wiederholt sehr deutlich 3 Strahlungen erkennen können; die am stärksten entwickelte Strahlung war um eines der Kernenden orientiert, die schwächeren lagen auf der anderen Seite und in einiger Entfernung vom Kern, entweder getrennt voneinander (Taf. VI Fig. 16 u. 18) oder durch eine schmale Brücke untereinander verbunden. Es scheint aber auch vorzukommen, daß alle Kernecken von schwacher Strahlung umgeben sind, (Taf. V Fig. 22).

Wir haben nun nach Kernen gesucht, welche das Rosettenstadium vorbereiten, und haben dabei allerdings einige derartige, wenn auch seltene Formen vorgefunden und 2 davon in den Figuren 16 und 20 (Taf. VI) abgebildet. Die Figur 20 stellt nur einen Teil des Kernes dar, weil bei Abbildung der übrigen Partieen die Zeichnung wirr und unverständlich geworden wäre. Man sieht das Chromatin zwischen 3 Kernpolen zu einer Art Mittelplatte zusammengedrängt, welche in 3 Schenkel ausgezogen ist. In Figur 16 dagegen ist die Verlagerung der Chromatinstäbchen nach den Kernpolen schon im Gange. Letztere Zeichnung ist auch aus einem weiteren Grunde von Interesse, insofern nämlich an dem

kombinierten Kern man ziemlich deutlich noch 2 Teile unterscheiden kann, von denen der eine unzweifelhaft dem Sperma-, der andere dem Eikern entspricht. Beide haben einen gemeinsamen Pol, weshalb der gesammte Kern 7-eckig ist.

An die rosettenförmigen Kerne schließen sich mehrere auf Kernteilung hinweisende Figuren an. Die Kontur des Kerns ist noch in ganz undeutlichen Umrissen erhalten, auch sind noch die letzten Reste von faserigen Streifen zu sehen, welche nach den — meist 8 — Kernecken hinstreben; diese selbst sind daran zu erkennen, daß entweder undeutliche rothe Flecke oder 2, 3 und mehr Kernbläschen hier liegen. (Taf. VI Fig. 25 und 27). Wie aus der Spindel 2 Gruppen von Kernbläschen entstehen, so hat sich hier deren eine ganze Anzahl entwickelt.

Am häufigsten aber sind Eier, bei denen unzweifelhaft eine Rekonstruktion des geteilten Furchungskerns im Gange ist. In einer polygonalen Kerngruppe sind einige Ecken noch von Gruppen kleiner Kernbläschen eingenommen, während in anderen ein einheitlicher oder nur schwach gelappter Kern liegt (Taf. VI Fig. 26); oder die polygonale Figur ist verwischt, man findet an einem Punkt des Eies mehrere (4, 5 oder 6) granulierte Kerne, zum Teil bis zur Verschmelzung genähert (Taf. VII Fig. 4 u. 5), oder es ist nur ein einziger granulierter Kern vorhanden, dessen Oberfläche aber gelappt ist (Fig. 6 u. 7), so daß man eine Zusammensetzung aus 4, 5 oder 6 Stücken erkennen kann.

Gewöhnlich sind derartige Kerne so fein granuliert, daß man ihre Konturen vom umgebenden Protoplasma kaum unterscheiden kann; allein sie können auch mehr den Charakter von Bläschen besitzen, in welchen die Kernsubstanz ein lockeres Netzwerk bildet (Taf. VI Fig. 8); das Netz selbst ist meist farblos, enthält aber chromatische Körnchen. Die Sonderung in achromatische und chromatische Teile ist weiter gediehen in Figur 9, wo letztere schon den Charakter von Schlingen annehmen. Hier schließen sich endlich die Kernfiguren 10 und 11 an; der Kern ist nicht mehr scharf konturiert; seine Form ist oval oder langgestreckt; sein Inhalt unregelmäßig gefasert, und in demselben sind hie und da Gruppen chromatischer Schlingen eingebettet.

Was wir bis jetzt kennen gelernt haben, sind Ausbildungsstufen von Eiern, bei denen eine Kopulation der Kerne sich vollzogen hatte. Nun waren aber einige wenige Eier auf früheren Stadien nachgewiesen worden, wo beide Kerne, wenn auch nahe bei einander liegend, so doch immerhin getrennt geblieben waren. Von

solchen Eiern leiten sich die wenigen Exemplare ab, bei denen Ei- und Spermakern getrennt in die Rosettenform übergeführt worden sind, wie es Figur 17 auf Tafel VI erkennen läßt.

Ungefähr 4 und 5 Stunden nach der Besamung (3 Uhr 13 M. u. 4 Uhr 30 M.) wurden die letzten Eier abgetötet; sie waren meist in Knospenfurchung begriffen und enthielten meist 2 oder mehr Kerne. Diese hatten fast nirgends Spindelform angenommen, entweder waren sie bläschenförmig (Fig. 23 Tafel VI) oder sie waren langgestreckt mit faserig differenziertem Inhalt und chromatischen Schlingen. Fächerförmige Kerne waren ebenfalls selten.

Behandlung besamter Eier mit einer 0.05 % Chininlösung.

Wir haben nur einen einzigen Versuch gemacht, indem wir Eier, welche um 11 Uhr besamt worden waren, 1 Minute später mit einer 0.05 % Chininlösung 10 Minuten lang behandelten. Das eingelegte Material ist leider verloren gegangen und müssen wir uns hier auf die kurzen Notizen beschränken, welche wir bei Beobachtung der lebenden Eier gemacht haben. Danach ist während der ersten Stunde keine Strahlung zu sehen und bildet sich der Spermakern ohne zu kopulieren in ein Bläschen um. Dann aber scheint Befruchtung einzutreten; denn um 1 Uhr waren die meisten Eier auf dem normalen Hantelstadium angelangt, viele 2-, einige sogar 4-geteilt. Nach weiteren 3½ Stunden (4 Uhr 30) waren alle Eier geteilt, einige in 4, die meisten in 8 Teilstücke. Die Entwicklung war nur insofern unregelmäßig, als die Teilstücke von ungleicher Größe waren.

Über das Verhalten der Spermatozoen in unreifen oder unvollkommen reifen Eiern.

Bei unseren vielfältigen Versuchen ist es sehr häufig vorgekommen, daß hie und da im Material Eier enthalten waren, welche noch ihr Keimbläschen besaßen oder in der Eireife begriffen waren, und so war es auch der Fall bei den Eiern, welche erst besamt und dann der Chloralwirkung ausgesetzt worden waren. Dabei hat sich denn herausgestellt, daß die Spermatozoen sich ganz verschieden verhalten, ob sie vor der Chloralbehandlung in ein reifes oder unreifes Ei eingedrungen sind.

Überall wo das Ei noch nicht vollkommen gereift ist, tritt

Polyspermie ein. Eier, welche noch das Keimbläschen besitzen, sind manchmal vollgepfropft von Spermatozoen, deren Zahl bis zu 30 betragen kann, welche dann nesterweise zusammenlagen. Man erkennt von ihnen nur die Köpfe, welche in ihrer 3-eckigen, nach einer Seite zugespitzten Gestalt an Pfeilspitzen erinnern. So findet man sie noch nach Stunden gänzlich unverändert vor, nicht einmal üben sie auf das umgebende Protoplasma einen eine Strahlung erregenden Reiz aus.

Ein einziges Mal und zwar unter den Eiern, welche $\frac{1}{4}$ Stunde nach der Besamung mit Chloral behandelt worden waren, sind wir einem Ei begegnet, welches im Begriff stand, den ersten Richtungskörper zu bilden (Taf. VII Fig. 2). Seit der Chloralbehandlung waren 4 Stunden verflossen; infolgedessen war Strahlung schon wieder vorhanden, wenn auch nicht stark ausgeprägt und zwar an 2 Enden einer homogenen 3-eckigen Figur, in welcher wir die durch Chloral modifizierte Richtungsspindel erblicken; das Chromatin der Spindel war in Form kleiner Stäbchen an verschiedenen Stellen abgelagert. Zahlreiche Spermatozoen, 3-eckige rot gefärbte Körperchen, — in der Figur sind sie nur zum Teil dargestellt — durchsetzten das Innere und bildeten kleine Gruppen, indem sie mit Vorliebe das spitze Ende nach einem gemeinsamen Zentrum richteten. Obwohl sie selbst trotz ihres langen Aufenthalts im Ei unverändert waren, hatten sie doch Einfluß auf das Protoplasma schon gewonnen, welches geringe Spuren von Strahlung an den spitzen Enden der Spermakerne erkennen ließ.

Ein Stoffaustausch zwischen Eiprotoplasma und Spermakernen wird erst bemerkbar, wenn der erste Richtungskörper gebildet worden ist; wir haben 4 solcher Eier aufgefunden und eines davon, welches etwa 4 Stunden zuvor der Chloralbehandlung unterworfen worden war, in Figur 1 Tafel VII abgebildet. Der Richtungskörper liegt in einer Vertiefung der Eioberfläche, darunter ein bläschenförmiger Kern, welcher sich unter dem Einfluß der Chloralbehandlung offenbar aus dem Rest der Richtungsspindel entwickelt hatte. Da in ihm noch die Bestandteile für den Kern des zweiten Richtungskörpers enthalten sind, ist er größer als der Eikern; auch das homogene Korn (achromatischer Nucleolus) ist etwa doppelt so groß als das entsprechende Korn des reifen Eies. Ungefähr 20 Spermakerne sind außerdem vorhanden; sie haben aber — ähnlich, wie es bei den Eiern von Asteracanthion und Nephelis geschieht — sich zu Bläschen mit farblosem Reticulum und wenigen chromatischen Körnchen umgewandelt. Dagegen ist eine faserige Umbildung

nicht eingetreten, obwohl die Zeit, welche seit dem Eintritt der Befruchtung verflossen ist, hierfür lange ausgereicht hätte.

Daß das Eindringen zahlreicher Spermatozoen an und für sich kein Grund ist, eine faserige Differenzierung der Spermakerne zu verhüten, würde schon aus den früher mitgeteilten Untersuchungen hervorgehen, es wird aber außerdem noch durch das Ei bewiesen, welches möglichst naturgetreu in Figur 3 Tafel VII abgebildet ist. In ihm sind 6 an Tetraster erinnernde Figuren zu sehen, von denen wir bisher nur wissen, daß sie aus Umwandlung von nicht konjugierten Ei- oder Spermakernen sich entwickeln. Da im Ei nur 1 Eikern vorhanden ist, müssen die übrigen Körper aus Spermakernen hervorgegangen sein; an einem Pole sind mehrere größere und kleinere Höcker zu sehen, wie sie bei mechanischen Verletzungen des Eies zu entstehen pflegen, und so deuten wir die Verhältnisse in folgender Weise; es liegt ein reifes Ei vor uns, welches aber infolge von mechanischen Insulten verletzt und demgemäß von mehreren Spermatozoen befruchtet worden ist. Die Chloralbehandlung verhinderte die Kopulation der Kerne und veranlaßte, daß Ei- und Spermakerne den selbständigen Entwicklungsgang einschlugen, den wir oben kennen gelernt haben. Es würde sich verlohnen, die Richtigkeit dieser Deutung zu erproben, indem man künstlich die hier vorausgesetzten zufällig entstandenen Verhältnisse erzeugte, was ja keinerlei Schwierigkeiten bereiten würde.

II. Abschnitt.

Beeinflussung der Eier durch chemische Agentien nach Ablauf der Befruchtung während der Vorbereitungsstadien zur Furchung.

Als wir durch die oben mitgeteilten Versuche ermittelt hatten, dass man durch verschiedene chemische Gifte die Geschlechtsprodukte, ohne sie abzutöten, schädigen und dadurch zu anormaler Entwicklung veranlassen kann, warfen wir die Frage auf, ob der durch die Befruchtung angeregte Teilungsprozeß in ähnlicher Weise abgeändert und in seinem Wesen modifiziert werden könne. Nach dieser Richtung konnten wir indessen wegen der fehlenden Muße nur mit 6 Stoffen, mit Nikotin, Strychnin und Morphium, mit Chinium sulfuricum, Chloralhydrat und mit Cocain

Experimente anstellen, die zu einem verschiedenen Ergebnis führten.

1. Beeinflussung der in der Vorbereitung zur Teilung begriffenen Eier durch Nikotin.

Während Nikotin das unbefruchtete Ei auch in stärkster Verdünnung schädigt, wurde bei Anwendung derselben Lösungen auf befruchtete Eier keine Störung hervorgerufen, wie folgende zwei Versuche lehren.

1. Versuch. Am Dienstag den 7 April 2 Uhr 15 Minuten wurden Eier befruchtet, um 4 Uhr 15 Minuten begannen sie sich zu teilen. Eine Partie derselben war um 3 Uhr 10 Minuten bis 3 Uhr 20 Minuten in die Nikotinlösung (1:100) gebracht und dann wieder mit frischem Meerwasser ausgewaschen worden. An den Eiern war keine Veränderung bemerkbar. Die Protoplasmastrahlungen um den Kern erhielten sich in derselben Deutlichkeit wie früher. Es trat gleichfalls um 4 Uhr 15 Minuten die erste Teilung ein und um 5 Uhr 30 Minuten schloß sich daran die Vierteilung.

2. Versuch. Am 15. April wurden Eier um 9 Uhr befruchtet. Nach ein und einer halben Stunde befanden sie sich auf dem Hantelstadium und wurden jetzt während 45 Minuten in die Nikotinlösung gebracht. Um 12 Uhr 45 Minuten erfolgte überall normale Teilung. Am andern Tage hatten sich normale, auf der Oberfläche des Wassers schwimmende Blastulae entwickelt.

Aus beiden Versuchen geht hervor, daß durch die vorübergehende Anwendung von Nikotin der Teilungsmodus als solcher nicht umgeändert werden kann, dagegen wird er, wie wenigstens der 2. Versuch andeutet, bei längerer Einwirkung verlangsamt. Vielleicht hängt diese geringe Reaction befruchteter Eier damit zusammen, daß das Nikotin durch die nach der Befruchtung gebildete Eihülle schwerer eindringt.

2. Beeinflussung der in Vorbereitung zur Teilung begriffenen Eier durch Strychnin.

Wie das Nikotin so hat auch Strychnin auf die in Teilung begriffenen Eier einen äußerst geringen Einfluß. Wir wandten eine 0,01 % Lösung 10 Minuten auf Eier an, welche eine Stunde vorher befruchtet worden waren. Um 12 Uhr (3 Stunden nach der Befruchtung) untersucht, waren fast alle zweigeteilt, wenige waren viergeteilt. Auch die weitere Entwicklung war zunächst noch im

großen und ganzen eine normale; am folgenden Tage wurde das Blastulastadium, am dritten das Gastrulastadium durchlaufen. Nur bei wenigen Eiern fand sich in der Furchungshöhle die auf eine gestörte Entwicklung hindeutende Körnchenanhäufung vor. Am 3. Tag war zwar das Kalkskelet schon angelegt, die Form des Pluteus aber noch nicht erreicht, das erste Anzeichen einer etwas intensiver gestörten Entwicklung. Weitere Versuche haben wir nicht angestellt.

3. Beeinflussung der in Vorbereitung zur Teilung begriffenen Eier durch Morphium.

Da Morphium die Spermatozoen fast gar nicht und die unbefruchteten Eier nur bei sehr energischer Behandlung verändert, so war auch von den Experimenten mit befruchteten Eiern wenig zu erwarten. In der That hat sich auch eine große Indifferenz herausgestellt, wie aus folgenden 2 Versuchen hervorgeht.

1. Versuchsreihe. Eine größere Quantität Eier wurde am 5. April früh 10 Uhr 30 Minuten befruchtet und in 3 Partien geteilt, die erste verblieb als Kontrollpartie im Meerwasser, die zweite Partie übertrugen wir um 1 Uhr 30 Minuten, als die Teilung in 4 Stücke begann, auf 1 Stunde in eine 0,6 % Morphiumlösung und wuschen dann tüchtig mit frischem Meerwasser aus, die dritte Partie ließen wir sich in 0,1 % Morphiumlösung entwickeln.

Bei beiden mit Morphium behandelten Partien verlief die Furchung normal, nur im Verhältnis zu dem im Wasser befindlichen Teil der Eier verlangsamt; auch fiel es auf, daß die Zellen größer waren und daß die zwischen Dotterhaut und Embryo befindliche Flüssigkeit eine bräunliche Färbung annahm. Ganz abnorm waren dagegen am folgenden Tage in beiden mit Morphium behandelten Portionen die Blastulae. Die sonst kuglige Gestalt war linsenförmig abgeplattet; die Furchungshöhle war ganz minimal; die normalerweise kubischen und äußerst zahlreichen Blastodermzellen waren spärlicher und zu langen pyramidenförmigen Körpern ausgezogen, deren breite Basen die Oberfläche der Blastula bilden halfen, während die abgestutzten verjüngten Enden die Furchungshöhle begrenzten.

Während die im Meerwasser sich entwickelnden Eier noch am 6. April Abends die Gastrulaeinstülpung bildeten und Tags darauf schon das Pluteusstadium erreichten, schwammen die mit Morphium behandelten Blastulae zwar lebhaft herum, rückten aber in der Entwicklung nur langsam vor. Das am 7. April ange-

legte Gastrulasäckchen blieb lange Zeit klein, die Gallertbildung war verlangsamt; in der Gallerte lagen spärliche rundliche Körper. Die Eier, welche in der 0,1 % Morphiumlösung verblieben waren, starben in diesem Zustande allmählich ab, das gleiche Schicksal teilten Eier, welche nach 48stündiger Behandlung am 7. April aus der 0,1 % Morphiumlösung in Meerwasser übertragen worden waren. Nur die aus der 0,6 % Morphiumlösung stammenden Larven lebten noch nach 6 Tagen am 11. April; obwohl das Gastrulasäckchen sich allmählich vergrößert hatte, waren sie doch nicht fähig gewesen die Pluteusform auszubilden.

2. Versuchsreihe. Eier, welche am 15. April früh 9 Uhr befruchtet wurden, dienten ebenfalls zu einem Doppelversuch; ein Teil wurde um 10 Uhr 30 Minuten lang mit 0,5 % Morphiumlösung behandelt, bei einem andern Teil wurde die Konzentration auf 0,4 % herabgesetzt, die Einwirkungsdauer auf 1 Stunde verlängert.

Die Teilung trat erst um 12 Uhr, also etwas verlangsamt ein, war aber im großen und ganzen normal, direkte Vierteilungen und unvollständige Teilungen waren selten. In analoger Weise verlief die spätere Entwicklung; das Pluteus- und Gastrulastadium traten etwas später als normal ein, waren aber regulär ausgebildet, nur daß die Gallertausscheidung auffallend gering war. Letzteres gab bei dem 1 Stunde lang mit Morphium behandelten Material den Plutei ein geschrumpftes Ansehen.

4. Beeinflussung der in Vorbereitung zur Teilung begriffenen Eier durch Chinium sulfuricum.

Da wir bei Anwendung einer 0,05 % Chininlösung überraschende und interessante Erscheinungen entdeckten, so beschränkten wir uns nicht auf die Beobachtung während des Lebens, sondern nahmen nachträglich noch an conserviertem Material Untersuchungen vor, die uns genaue Einblicke in die eigentümlichen Kernveränderungen im Innern der Eier gewährten. Wir teilen hierüber zwei Untersuchungsreihen mit, von welchen sich die erste allein auf lebendes Material bezieht.

1. Versuch. Um 8 Uhr 35 Minuten befruchtete Eier befanden sich um 9 Uhr 40 Minuten im Vorbereitungsstadium zur Teilung.

Das Eimaterial wurde nun in 5 Portionen geteilt. Eine derselben wurde in reinem Meerwasser belassen und begann sich um 10 Uhr 35 Minuten, also 2 Stunden nach der Befruchtung zu

teilen; die 4 anderen Portionen wurden in verschiedener Weise der Einwirkung einer 0,05 % Chininlösung unterworfen.

Portion a. Die Eier wurden um 9 Uhr 40 Minuten 10 Minuten lang in die Chininlösung übertragen und dann in reines Meerwasser zurück versetzt. Bei sofort vorgenommener mikroskopischer Untersuchung war jetzt die Eistruktur im wesentlichen verändert. In den Raum zwischen Dotter und Eihaut war etwas von dem Farbstoff, welcher den Eiern ihr gelbrötliches Aussehen verleiht, ausgetreten. Die um den Kern ursprünglich vorhandene und scharf ausgeprägte strahlige Anordnung des Protoplasma hatte sich rückgebildet. Um 11 Uhr begannen sich indessen die Eier wieder zu erholen. Das strahlige Gefüge des Protoplasma um den Kern bildete sich von neuem aus. An vielen Objekten zeigte sich das Hantelstadium. Um 11 Uhr 5 Minuten, also eine halbe Stunde später als bei dem unbehandelt gebliebenen Eimaterial konnten schon vereinzelte in normaler Weise ablaufende Zweiteilungen beobachtet werden.

Bei anderen Eiern war die Störung eine intensivere. Anstatt sich in 2 Zellen zu teilen, schnürten sie sich, wie namentlich um 11 Uhr 45 Minuten häufig zu sehen war, in vier unregelmäßige Stücke ein, die gewöhnlich noch eine Zeitlang durch dickere Stiele in Zusammenhang blieben.

Portion b. Die Eier der zweiten Portion wurden von 9 Uhr 40 Minuten bis 10 Uhr der Chininwirkung ausgesetzt und wieder in reines Wasser übertragen. Nachdem die Strahlenbildung durch das Reagens aufgehoben war, kehrte sie erst nach 70 Minuten an den beiden Polen des ovalen Kerns wieder. Hier und da entstanden statt des gewöhnlichen Amphiasters deutliche Tetrasterbildungen. Um 11 Uhr 20 Minuten kam es zur Teilung, wobei die Eier teils in 2, teils in 4 Stücke zerfielen, die häufig noch längere Zeit in Zusammenhang blieben.

Portion c. Bei einer dritten Portion wurde die Einwirkung des Chinin auf eine halbe Stunde ausgedehnt (von 9 Uhr 40 Minuten bis 10 Uhr 10 Minuten). Es hatte dies zur Folge, daß die Strahlung im Protoplasma auf noch längere Zeit unterdrückt wurde. Denn sie begann jetzt erst um 11 Uhr 30 Minuten wieder hervorzutreten. Es entstanden vereinzelte Amphiaster und zahlreichere Tetraster. Noch weiter war das Teilungsstadium hinausgerückt. Denn erst um 12 Uhr 30 Minuten waren einzelne Eier zweigeteilt. Die größere Anzahl dagegen schnürte sich in 4 Stücke ein. Der weitere Entwicklungsgang wurde immer mehr unregelmäßig, indem

die Teilprodukte sehr ungleiche Größe erhielten. Der häufigste Fall war der, daß sich neben 4 großen noch 4 kleinere Zellen vorfanden. Im Übrigen war durch die Chininbehandlung das Eimaterial dauernd geschädigt worden; die sich entwickelnden Blastulae waren monströs und es wurde am zweiten und dritten Tage die Zahl der absterbenden und zerfallenden Eier immer größer.

Portion d. Eine vierte Partie Eier wurde in die Chininlösung erst übertragen, als der Amphiaster schon vollständig ausgebildet war (also kurze Zeit vorher, ehe die Teilung hätte erfolgen müssen), und nur 5 Minuten in ihr belassen (von 10 Uhr 30 Minuten bis 10 Uhr 35 Minuten). Nur wenige der schon am weitesten vorgeschrittenen Eier teilten sich oder schnürten sich wenigstens zur Hälfte ein. Bei dem größten Teil bildete sich die Strahlung zurück. Um 3 Uhr war auch an diesen Eiern ein nachträglicher Zerfall in einzelne ungleich große Stücke eingetreten, von denen zuweilen eines 4 bis 6 Strahlungen enthalten konnte.

2. Versuch. Die Eier wurden um 9 Uhr befruchtet und, als sie sich auf dem Hantelstadium befanden, um 10 Uhr 30 Minuten auf 20 Minuten in eine Chininlösung von 0,05 % gebracht. Um 12 Uhr waren in den meisten Eiern sehr deutlich vielstrahlige Figuren zu beobachten. Ein Teil des Materials wurde hierauf zum Zweck genauerer Untersuchung in Pikrinessigsäure eingelegt.

Eine Stunde später begann hier und da der Teilungsprozeß. Einige Eier schnürten sich in 4 Stücke ein. Andere waren auf ihrer Oberfläche mit zahlreichen Knospen bedeckt. Abermals wurde ein Teil des Materials konserviert.

Um 3 Uhr waren fast alle Eier in unregelmäßige Haufen kleiner Zellen zerfallen. Hier und da zeigte ein Ei auch nur mehrere Einschnürungen auf seiner Oberfläche.

An dem in zwei Intervallen eingelegten Material ließ sich nachträglich über die am Kern vor sich gehenden Veränderungen noch folgendes feststellen.

Die Kernspindeln, welche bei Zusatz der Chininlösung sich in Vorbereitung zur Teilung befanden, hatten sich vollständig zurückgebildet und an ihrer Stelle waren eine Stunde später ganz abweichende Kernfiguren entstanden. Wir beschreiben hier einige derselben, wie sie sich im Entwicklungsgang wohl aneinander anreihen müssen, denn die um 12 Uhr eingelegten Objekte befanden sich nicht auf dem gleichen Entwicklungsstadium.

An manchen Objekten beobachteten wir im Dotter einen Hau-

fen verschieden großer Kernbläschen, in welchen das Chromatin in einem Netzwerk angeordnet war (Taf. III, Fig. 6). Von Strahlung war nichts zu sehen. Die Kernbläschen werden sich aus den Chromatinkörnern der Spindel in ähnlicher Weise hervorgebildet haben, wie es bei Entstehung der Tochterkerne geschieht, wo auch erst jederseits von der Teilungsebene nach eben vollendeter Furchung je ein Haufen zusammengedrängter Kernvacuolen erscheint. Daraus entwickelt sich dann, so schließen wir aus unserer Untersuchung des konservierten Materials weiter, ein ziemlich großer blasenförmiger Kern mit einem Netzwerk achromatischer Fäden, denen chromatische Substanz angelagert war (Taf. III, Fig. 2). An vier Stellen seiner Oberfläche waren gewöhnlich 4 Strahlungen, entweder nur schwach angedeutet oder stark entwickelt. An diesen Stellen war in der Regel die Kernoberfläche in kleine Höcker ausgezogen und undeutlich begrenzt. Darauf verwandelte sich der vierstrahlige Kern in einen Haufen von Spindeln, welche zwischen den 4 Strahlungen in einer etwas verschiedenen Weise angeordnet sind (Tafel III, Fig. 4). Die Umwandlung geschieht in der Art, daß die Umrandung des Kerns verschwindet und die Chromatinfädchen frei zwischen die Strahlungen zu liegen kommen. Dann werden zwischen den Strahlungen Spindelfasern auf der Oberfläche des Haufens von Chromatinfädchen sichtbar. Auf einem noch weiter vorgerückten Stadium verteilen sich die Chromatinteile in typischer Weise auf die einzelnen Spindeln und stellen so im Äquator derselben je eine Kernplatte dar; hierdurch kommen folgende, voneinander etwas abweichende und zuweilen sehr regelmäßige Kernfiguren zu stande.

Der häufigste Befund ist, daß die vier Strahlungen etwas weiter auseinander gerückt und durch fünf typische Spindeln verbunden sind (Taf. III, Fig. 3). Vier derselben umgrenzen zusammen einen Rhombus, in dessen Ecken sich die vier Strahlungen befinden und je 2 Spindelspitzen zusammenstoßen. Die fünfte Spindel verbindet 2 entgegengesetzte Ecken des Rhombus, liegt also innerhalb desselben. Hierbei sind auch die Kernplatten zu einer charakteristischen, (durch beistehende Zeichnung wieder gegebenen) Figur verbunden, welche besonders im Farbenbild deutlich erkannt wird. Je zwei Kernplatten zweier in der Begrenzung des Vierecks gelegenen Spindeln stoßen unter einem stumpfen Winkel zusammen, dessen Spitze nach der Mitte der Figur gerichtet ist. Die Spitzen der zwei nach entgegengesetzten Richtungen geöffneten Winkel werden durch die fünfte Kernplatte verbunden.

Abweichungen von dieser gewöhnlichen Form kommen nicht selten vor und bestehen darin, daß eine Strahlung von den drei übrigen etwas weiter entfernt liegt (Taf. III, Fig. 1). Dann sind die drei Strahlungen durch drei Spindeln zu einem Triaster vereinigt. Im Mittelpunkt des so gebildeten gleichschenkeligen Dreiecks stoßen die 3 Kernplatten zusammen, wieder eine regelmäßige Figur erzeugend. Die vierte abseits liegende Strahlung hängt durch eine einzige Spindel mit einer Strahlung des Triasters zusammen.

Als ein Übergang zwischen den beiden soeben beschriebenen Befunden läßt sich wohl Tafel III, Fig. 5 betrachten. Hier geht von der mehr isoliert gelegenen Strahlung x noch eine zweite, aber schwach und unvollständig ausgebildete Spindel, deren Kernplatte nur aus sehr wenigen und kleinen Chromatinkörnchen besteht, nach einer zweiten Strahlung des Triasters.

Daran schließen sich die Stadien, die zur Teilung führen. Die Kernplatten der 4 oder 5 Spindeln weichen auseinander und wandern nach den in den Strahlungen gelegenen 4 Attraktionszentren. Hier tauchen in regelmäßigen Abständen von einander vier Kerne auf (Taf. II, Fig. 21), die durch die Verschmelzung von 2 respektive 3 Kernplatten hervorgegangen sind und zuweilen noch durch einen körnchenfreien Dotterstreifen verbunden sind. Später rücken die Kerne mehr auseinander nach der Oberfläche des Dotters und veranlassen in manchen Fällen den Dotter, sich in unregelmäßiger Weise einzuschnüren, so daß ebenso viel Höcker als Kerne gebildet werden. Zu einer vollständigen Teilung in 4 Stücke kommt es in der Regel nicht.

Hervorzuheben ist auch noch, daß infolge der Chinineinwirkung sich im Dotter größere und kleinere glänzende Kugeln, die vielleicht aus Fett bestehen, ausgeschieden und namentlich im Zentrum, sowie in Streifen zwischen den Kernen angesammelt haben (Taf. II, Fig. 21).

Die 4 Kerne schicken sich bald darauf wieder zur Teilung an, indem an zwei entgegengesetzten Polen Strahlen entstehen. Jeder Kern gestaltet sich zu einer typischen Spindel um, welche häufig parallel zur Oberfläche des Eies in der Dotterrinde eingelagert ist. (Taf. II, Fig. 22). Dabei vertiefen sich die schon früher erwähnten Einschnürungen langsam und jede Spindel kommt in einen Höcker oder eine Knospe zu liegen (Fig. 22). Entweder wird die Trennung jetzt schon eine ziemlich vollständige oder es treten die 4 Spindeln, indem ihre Kernplatten in 2 Hälften auseinanderweichen

(Taf. II, Fig. 24) in Teilung ein, ehe die Furchen weit in das Dotterinnere gedrungen sind. Dies hat zur Folge, daß sich die 4 ersten Höcker, noch ehe sie von einander getrennt sind, abermals einzuschnüren beginnen, ein Modus der Zellenvermehrung, für welchen wir den Namen Knospenfurchung eingeführt haben.

5. Beeinflussung der in Vorbereitung zur Teilung begriffenen Eier durch Chloral.

In einer im ganzen ähnlichen Weise wie Chinium sulfuricum wirkt Chloral auf den Entwicklungsgang befruchteter Eier störend ein, wie wir sowohl an frischem als auch an konserviertem Material haben feststellen können. Wir geben zunächst auch hier wieder das Protokoll aus unserem Tagebuch von 3 Versuchen, von denen der letzte das Material zur Konservierung geliefert hat.

1. Versuchsreihe. Am Donnerstag den 2. April wurden Eier um 9 Uhr 20 Minuten befruchtet, um 10 Uhr 30 Minuten standen sie auf dem Hantelstadium, um 11 Uhr teilten sie sich. Sie wurden, als sie auf dem Hantelstadium angelangt waren, in 4 Partien geteilt und verschieden lange Zeit mit einer 0,5 % Lösung von Chloralhydrat behandelt.

Portion a. Nach viertelstündiger Behandlung mit Chloral (10 Uhr 30 Minuten bis 10 Uhr 45 Minuten) wurden die Eier in frisches Meerwasser zurückversetzt. Die Hantelfigur war nur noch als eine körnchenfreie Stelle im Dotter angedeutet, da die Strahlung fast ganz geschwunden war.

Portion b. Die Chloralwirkung währte eine halbe Stunde und veranlaßte dieselben Veränderungen wie oben. In beiden Partien begannen sich die Eier um 2½ Uhr in unregelmäßiger Weise zu zerklüften, wobei ähnliche Bilder entstanden, wie sie bei der Überfruchtung als Knospenfurchung beschrieben wurden. Auf der Oberfläche des Dotters entwickelten sich größere und kleinere Knospen, die längere Zeit miteinander verbunden blieben und sich durch weitere Einschnürungen vermehrten und schließlich in größere und kleinere Teilkugeln zerfielen. Die Kernteilung eilte den Veränderungen im Protoplasma voraus. Denn in den größeren Stücken konnten wir um 3 Uhr 15 Minuten zuweilen 4—6 schwach ausgeprägte Strahlungen wahrnehmen. Um 5 Uhr ist der Furchungsprozeß so weit fortgeschritten, daß der Dotter trotz des gestörten Entwicklungsganges in lauter kleine ziemlich regelmäßige Furchungskugeln zerfallen ist, von welchen die kleineren sich mehr im Zentrum der Morula anhäufen.

Am folgenden Tag war ein kleinerer Teil des Eiquantums abgestorben und zerfallen. Der größere Teil hatte sich in Blastulae umgebildet, deren Inneres mit Körnern und Kugeln anstatt mit Gallerte ausgefüllt war. Zwischen ihnen schwammen einige ganz kleine Flimmerkugeln oder unregelmäßige Fragmente von solchen herum, die in der Weise entstanden waren, daß aus den Blastulae die im Inneren enthaltene abnorme Körnermasse durch einen Riß der Zellenhaut ausgeflossen war. Am dritten Tage hatten sich die pathologischen Blastulae noch etwas weiter entwickelt. An einer Stelle hatte sich die Zellenmembran verdickt und Pigmentkörnchen aufgenommen. Hier und da begann sich diese Stelle in's Innere einzusenken, mit welchem Prozeß die Einleitung zur Gastrulation gegeben war.

Portion c. Eine einstündige Behandlung der Eier mit Chloral (10 Uhr 30 Minuten bis 11 Uhr 30 Minuten) rief ähnliche Erscheinungen wie oben, nur in einem noch höherem Grade hervor. Es bildeten sich unregelmäßigere Knospen und in größerer Anzahl. Die Eier waren stärker geschädigt, was sich auch darin zeigte, daß das Protoplasma bei der Teilung fast gar keine Strahlung erkennen ließ und daß am folgenden Tage fast alle Eier zerfallen waren. Die noch überlebenden Larven waren arg verstümmelt. Unter ihnen sah man einzelne flimmernde Zellmembranen, die etwas zusammen gekrümmt waren. Sie sind wohl in der Weise entstanden, daß einzelne Blastulae geplatzt sind und den in ihrem Inneren eingeschlossenen körnigen Detritus nach außen entleert haben. Der letztere stellt wohl den Teil des Protoplasma der Eizelle dar, welcher infolge der Chloralbehandlung geschädigt und abgestorben ist, und welcher während der Knospenfurchung vom lebenden Protoplasma eliminiert und im Zentrum der Blastula angesammelt wurde.

Portion d. Die Chloralbehandlung wurde $5\frac{1}{2}$ Stunden (von 10 Uhr 30 Minuten bis 4 Uhr) fortgesetzt. Die Eier hatten jetzt ihre Entwicklungsfähigkeit eingebüßt, auch waren sie in ihrer inneren Struktur verändert, indem sie grobkörnig geworden waren.

2. Versuch. Die Eier wurden um 2 Uhr 15 Minuten befruchtet und um 3 Uhr 10 Minuten bis 3 Uhr 20 Minuten in 0,5 % Chloral gebracht. Die Strahlung erlosch allmählich. Der Kern war um 4 Uhr noch sichtbar, eine Viertelstunde später war er undeutlicher geworden und um 5 Uhr 20 als besonderes Gebilde im frischen Zustande verschwunden. Um 8 Uhr

zerfielen die Eier durch Knospenfurchung in zahlreiche Stücke. Am anderen Tage waren unregelmäßige Larvenformen entstanden, manche waren nur Haufen von epithelartig zusammengeordneten flimmernden Zellen. Dem Haufen lagen innerhalb der Eihülle noch größere und kleinere aus dem Verbande der übrigen ausgeschiedene Zellen locker an. An den folgenden Tagen starben viele Larven ab; einige indessen ließen sich eine Woche lang am Leben erhalten und flimmerten in Massen als Blastulae herum, die im Inneren einen Gallertkern entwickelt hatten und hier und da mit braunen Pigmentflecken bedeckt waren.

3. Versuch. Die Eier wurden um 12 Uhr befruchtet und von 1 Uhr 7 Minuten bis 1 Uhr 17 Minuten in Chloral gebracht. Das Material wurde zur Untersuchung konserviert und auf 3 verschiedenen Stadien um 2 Uhr, um 3 Uhr und 4 Uhr in Pikrinessigsäure eingelegt.

Um 2 Uhr ist in den Eiern die Strahlung verschwunden; nach Färbung mit Boraxkarmin sieht man im Dotter eine helle, körnchenfreie Stelle, in welcher sich der in seiner normalen Entwicklung gehemmte Kern zu einem Haufen chromatischer Körnchen zurückgebildet hat (Taf. III, Fig. 9). Aus demselben ist nach einer Stunde eine größere Anzahl dicht zusammengedrängter Kernvacuolen hervorgegangen (Taf. III, Fig. 7a und b). Ab und zu können dieselben auch im Dotter auf 2 oder 3 Stellen zerstreut sein. Hiermit ist der Beginn einer neuen Entwicklungsrichtung in der Eizelle eingeleitet. An dem Haufen der Kernvacuolen, welche in den meisten Fällen zu einem mit Höckern bedeckten Bläschen zusammengeflossen sind, treten 4 Strahlungen auf (Taf. III, Fig. 8) wie bei den mit Chinin behandelten Eiern, nur mit dem Unterschiede, daß die Strahlungen nie eine größere Ausdehnung erreichen, sondern stets auf die nächste Umgebung des Kerns beschränkt bleiben. Zwischen den Strahlungen verschwindet alsdann die blasenartige Beschaffenheit des Kerns und es kommt jetzt die chromatische Substanz frei in den Dotter zu liegen (Taf. III, Fig. 10). Hier ordnet sie sich zu fünf, je in der Mitte zwischen zwei Strahlungen gelegenen Kernplatten an, welche zu der charakteristischen Figur, die wir schon für die mit Chinin behandelten Eier beschrieben haben, vereinigt sind (Taf. III, Fig. 11). Doch sind die Kernfiguren an diesen Praeparaten viel kleiner und undeutlicher, daher wir auch die Spindelfasern zwischen den 4 Strahlungen nicht klar unterscheiden konnten. Aus dem Tetraster bilden sich später vier Kerne hervor.

Zu dieser Zeit kann man auf der Oberfläche des Dotters durch Einschnürungen 4 Höcker entsprechend den vier Kernen entstehen sehen. Noch ehe indessen die Höcker sich als Knospen abschnüren, treten die 4 Kerne bereits in ein neues Teilungsstadium ein, indem sie sich in Kernspindeln umwandeln. Im allgemeinen läßt sich die Regel feststellen, daß allen Kernveränderungen die Zerklüftung des Protoplasma nur langsam nachfolgt. Die vier Spindeln können sich schon zu 8 Kernen zerteilt haben und diese abermals in Spindelbildung übergegangen sein, ohne daß sich der Zusammenhang zwischen den vier zuerst entstandenen Protoplasmahöckern gelöst hat (Taf. II, Fig. 25). Nur ist die Einschnürung zwischen ihnen größer geworden und sie selbst haben sich mittlerweile mit secundären und tertiären Einschnürungen bedeckt, in welche die an Zahl vermehrten Spindeln oder Kerne eingebettet sind. So zeigt zum Beispiel das in Fig. 25 dargestellte Ei zahlreiche noch verbundene größere und kleinere Knospen, in welchen 8 Spindeln gezählt werden konnten.

6. Beeinflussung der in Vorbereitung zur Teilung begriffenen Eier durch Cocain.

Durch die mit Chinin und Chloralhydrat erhaltenen Resultate veranlaßt, nahmen wir auch eine Prüfung mit Cocain vor. Am 15. April wurden Eier um 9 Uhr befruchtet und, als sie sich um 10 Uhr 30 Minuten auf dem Hantelstadium befanden, für 20 Minuten in eine 0,05 % Lösung von Cocain gebracht. Das Ergebniß war ein ähnliches wie das durch Chinin und Chloralhydrat erhaltene. Denn gegen 12 Uhr begannen sich viele Eier zu vierteilen. Es sind also auch hier durch die Cocainwirkung die 2 Attraktionszentren des Amphiasters in 4 Zentren zerlegt worden. Aus den 4 Teilstücken waren um 3 Uhr kleine Zellenhaufen hervorgegangen. Auch an den folgenden Tagen schritt die Entwicklung weiter vor und führte allmählich zur Bildung etwas anormal beschaffener Blastulae und Gastrulae. Dabei starben in den Zuchtgläsern immer viele Larven ab. Auch war der ganze Entwicklungsprozeß im Vergleich zu Eiern, die nicht mit Reagentien behandelt worden sind, außerordentlich verlangsamt.

Zweites Kapitel.

Beeinflussung der Geschlechtsprodukte durch thermische Veränderungen.

Da das Protoplasma durch Abkühlung und Erwärmung, wie namentlich das Studium der Protoplasmaströmung an geeigneten Objekten gelehrt hat, in seinen Lebensäußerungen in sehr auffälliger Weise beeinflußt wird, so lag es nahe bei den von uns vorgenommenen Untersuchungsreihen auch zu prüfen, ob der Befruchtungsvorgang durch thermische Einflüsse modifiziert werden könne. In Anbetracht der karg zugemessenen Zeit experimentierten wir nur nach einer Richtung, indem wir von einer Herabsetzung der Temperatur durch Kältemischungen Abstand nahmen. Den Einfluß einer erhöhten Temperatur auf die Eier prüften wir dagegen in einer zweifachen Weise, erstens indem wir bei konstanter Temperatur die Dauer der Einwirkung variierten, zweitens indem wir bei gleicher Dauer der Einwirkung verschiedene Temperaturgrade benutzten.

In ersterem Fall wurde ein größeres Eiquantum in ein mit Meerwasser gefülltes Reagensröhrchen gebracht und in Wasser getaucht, das auf 31 Grad Celsius erwärmt war und gleichmäßig auf dieser Temperatur erhalten wurde. Nach 10, 15, 30, 45, 60 Minuten etc. wurde ein Teil der im Reagensröhrchen erwärmten Eier mit einer Glasröhre herausgenommen und im Uhrschälchen befruchtet. Die eintretenden Veränderungen wurden teils am lebenden Objekt, teils an todtem Material untersucht, welches zum Zweck genaueren Studiums konserviert worden war.

Im anderen Falle experimentierten wir in der Weise, daß wir in Wasser von 44° Celsius Wärme Eier in einem Reagensröhrchen während 5 Minuten erwärmten und dann befruchteten. Mit anderen Portionen von Eiern verfuhren wir genau ebenso, nachdem sich das Wasser auf 42, 41, 40 etc. bis zu 30° Celsius abgekühlt hatte.

Erste Versuchsreihe.

Eier in Wasser von 31° Celsius während verschieden langer Zeit erwärmt.

a. Eier 10 Minuten auf 31° Celsius erwärmt.

Wenn die Eier nur während 10 Minuten einer Erwärmung von 31° Celsius ausgesetzt wurden, so schien zunächst der Be-

fruchtungsvorgang in normaler Weise zu verlaufen. Die Dotterhaut wurde überall rasch und scharf abgehoben. Man sah nur einen kleinen Befruchtungshügel gebildet werden. Indessen lehrte der weitere Verlauf, sowie die Untersuchung mit Reagentien, daß schon durch die kurze Erwärmung nicht unerhebliche Veränderungen gesetzt worden waren. Ein Teil der Eier wurde eine Viertelstunde nach Vornahme der Befruchtung abgetötet, eine zweite Portion $1^1/_4$ Stunde darauf. In ein drittes Gläschen wurden Eier gesammelt, die später in verschiedenen Zeitintervallen in Pikrinessigsäure gebracht worden waren.

Bei Reagentienbehandlung überzeugt man sich nach Färbung mit Boraxkarmin auf das unzweideutigste, dass für gewöhnlich eine Befruchtung durch ein Spermatozoon und nur ausnahmsweise eine solche durch deren zwei stattgefunden hat. Aber der normale Weiterverlauf ist gleichsam gehemmt, ohne daß das Ei selbst abgestorben wäre. Während normalerweise eine Viertelstunde nach der Befruchtung schon die Kopulation der beiden geschlechtlich differenzierten Kerne im Zentrum des Eies vor sich geht, findet man sie jetzt meist noch in weiter Entfernung voneinander. Der Spermakern liegt ganz oberflächlich in der Dotterrinde, von einer nur schwach angedeuteten Strahlung umgeben, die Lage des Eikerns scheint sich nicht verändert zu haben und ist, wie im unbefruchteten Ei, bald eine zentrale, bald eine periphere.

Der lähmungsartige Zustand, in welchen wir die Eizellen versetzt sehen, ist von längerer Dauer. Selbst $1^1/_4$ Stunde nach geschehener Befruchtung ist in weitaus den meisten Fällen noch keine Kopulation der Kerne erfolgt. In der Regel bietet sich folgender Befund dar. Der Eikern ist jetzt mehr nach der Mitte des Eies gerückt. Um ihn ist eine körnchenfreie, häufig oval gestaltete Stelle im Dotter entstanden (Taf. II, Fig. 6); neben ihm oder in einiger Entfernung von ihm, doch fast stets im Bereich des körnchenfreien Protoplasma befindet sich der Spermakern, welcher gegen früher um ein mehrfaches an Größe zugenommen hat, aber auch dementsprechend sich weniger intensiv mit Karmin färbt. Häufig hat sich um ihn ein kleiner, scharf konturierter mit Flüssigkeit erfüllter Raum gebildet.

Wenn Ei- und Spermakern aneinander gerückt sind, treten in ersterem (Taf. II, Fig. 8) chromatische Körnchen, die für gewöhnlich nicht deutlich gemacht werden können, in streifenartiger Anordnung hervor, während der größte Teil des Kerngerüstes achromatisch ist.

Die in einer Vacuole (Taf. II, Fig. 8) eingeschlossene Substanz des Spermakerns läßt eine körnige und fadenartige Beschaffenheit erkennen und scheint auch aus chromatischen und achromatischen Teilen zusammengesetzt zu sein.

Dies führt zum Verständnis einiger Eier, bei welchen schon weiter gehende Veränderungen an den Kernen eingetreten sind. In ihnen ist der Eikern als kugliger Körper verschwunden, an seiner Statt wird ein Streifen chromatischer, hufeisenförmig gekrümmter Fäden und in ihrer unmittelbaren Nähe der vergrößerte Spermakern, sowie zwischen beiden eine Dotterstrahlung wahrgenommen (Taf. II, Fig. 9). In einem Falle (Fig. 10) war neben der ersten in einiger Entfernung noch eine zweite Strahlung zu sehen.

Daran schließt sich alsdann wohl der folgende Befund an, daß beide Kerne als solche sich verändert haben. In Fig. 13, Taf. II sieht man neben einer gut ausgebildeten Dotterstrahlung jederseits zwei Ansammlungen chromatischer Substanz. Die eine besteht aus feinen Fäden und Schlingen und ist aus dem Eikern hervorgegangen, die andere kann wohl nur vom Spermakern abstammen, sie ist ein unregelmäßiges Klümpchen von Chromatin, das nach der Dotterstrahlung zu in mehrere Zacken ausgezogen ist.

Eine dritte Portion von Eiern, die noch später nach der Befruchtung abgetötet worden war, zeigte ein Gemisch verschiedener Zustände. In einigen Fällen waren Ei- und Spermakern immer noch vorhanden; letzterer war dabei zu einem ziemlich umfangreichen Bläschen mit einer darin gelegenen Chromatinkugel vergrößert. In anderen Fällen fanden sich an ihrer Stelle zwei Haufen von Chromatinkörnchen nahe bei einander in eine zuweilen ausgedehnte Strahlung des Dotters eingehüllt. Beide Kerne hatten also begonnen, sich in Fäden zu differenzieren, ohne daß vorher eine Verschmelzung zwischen ihnen stattgefunden hätte.

Erst $2\frac{1}{2}$ Stunde nach Vornahme der Befruchtung sahen wir bei Untersuchung des frischen Materials vereinzelte Eier im Beginn der Teilung. Dieselbe verlief selten ganz normal. Häufig lag die Teilungsspindel etwas exzentrisch. Die Teilungsstücke wurden von ungleicher Größe. Ab und zu beobachteten wir auch Eier, welche gleich in 4 Stücke zerlegt wurden.

b. Eier 20 Minuten auf 31° Celsius erwärmt.

Wenn die Erwärmung der Eier auf 25° Reaumur 20 Minuten dauerte, so wurde beim Zusatz von Samen eine noch größere Überfruchtung als im vorher dargestellten Fall hervorgerufen. Um den Grad der Überfruchtung richtig abschätzen zu können, sind wir in der Weise verfahren, daß wir an Kanadabalsampräparaten an einer Summe neben einander gelegener Eier die Anzahl der eingedrungenen Spermatozoen bei starker Vergrößerung bestimmt und daraus das Mittel gezogen haben. Das Resultat zweier Zählungen stellen wir in 2 Tabellen zusammen.

I. Tabelle.

Ei	1	mit	1	Spermakern,
„	2	„	1	„
„	3	„	3	„
„	4	„	2	„
„	5	„	3	„
„	6	„	3	„
„	7	„	1	„
„	8	„	2	„
„	9	„	1	„
„	10	„	1	„
„	11	„	2	„
„	12	„	1	„
„	13	„	2	„
13 Eier		mit	23	Spermakernen.

II. Tabelle.

Ei	1	mit	3	Spermakernen.
„	2	„	2	„
„	3	„	2	„
„	4	„	1	„
„	5	„	3	„
„	6	„	2	„
„	7	„	2	„
„	8	„	1	„
„	9	„	3	„
„	10	„	1	„
10 Eier		mit	20	Spermakernen.

Es war demnach jetzt nur der kleinere Teil der Eier einfach befruchtet worden, in dem größeren Teil waren entweder zwei oder drei Spermatozoen nachzuweisen. In ganz vereinzelten Fällen ließen sich auch 4 oder selbst 5 Spermakerne im Dotter auffinden.

In Tabelle I sind 23 Spermatozoen in 13 Eier und in Tabelle II deren 20 in 10 Eier eingedrungen. Bei gleichmäßiger Verteilung der Spermakerne würden auf jedes Ei etwa 2 kommen.

Die Eier waren zum Zweck genauerer Untersuchung in 3 Portionen abgetötet worden, eine Portion ¼ Stunde nach Befruchtung, eine zweite Portion 1¼ Stunde und eine dritte Portion noch später.

Nach einer Viertelstunde liegt der Eikern meist peripher, die eingedrungenen Spermatozoen befinden sich durchschnittlich noch

in der Dotterrinde und vom Eikern weit entfernt und haben im Protoplasma gar keine oder nur eine wenig auffällige Strahlenbildung hervorgerufen.

Nach $1\frac{1}{4}$ Stunde ist der Eikern als solcher bei einem kleineren Teil der Eier unsichtbar geworden; wo er noch vorhanden ist, findet er sich mehr im Innern des Dotters (Taf. II, Fig. 7) und ist von einer größeren körnchenfreien Protoplasmamenge umschlossen, in deren Bereich auch die eingedrungenen Spermakerne gewöhnlich vom Eikern ein wenig entfernt liegen. Einzelne können auch noch in der Dotterrinde verweilen. An Größe haben sie um ein mehrfaches zugenommen.

An den Eiern, deren Eikern nicht mehr sichtbar ist, sind Strahlungen in der verschiedensten Weise gebildet und meist exzentrisch gelegen, wie wir an 3 Beispielen erläutern wollen. In Fig. 14, Taf. II ist eine nierenförmige, ziemlich ausgedehnte Strahlung, in deren Mitte achromatische Fäden liegen. Außerhalb der Strahlung an entgegengesetzten Seiten derselben sind zwei Spermakerne, deren chromatische Substanz in einen Faden ausgezogen ist, von welchem sich Körnchen abzulösen scheinen. In einem anderen Präparat (Taf. II, Fig. 16) findet sich exzentrisch im Ei ein Triaster, drei durch Spindeln verbundene Strahlungen und in der Mitte derselben ein Streifen chromatischer Körnchen. Im dritten Ei sind an 2 getrennten Stellen der Dotterrinde Kernfiguren in Entwicklung begriffen. An einer Stelle ist eine ziemlich wohl entwickelte Spindel zu sehen, an der anderen Stelle eine Doppelstrahlung mit einem Haufen Chromatinkörnchen und nahe dabei ein in körnigem Zerfall begriffener Spermakern.

Die dritte Portion der konservierten Eier bietet uns ebenfalls ein Gemisch verschiedenartiger Bilder dar. Bald ist der Eikern noch erhalten und von mehr oder weniger zahlreichen Spermakernen umgeben (Taf. II, Fig. 12), bald ist er nicht mehr sichtbar, und unregelmäßige, kleine Haufen chromatischer Substanz finden sich an einer oder an mehreren Stellen im Dotter in einer körnchenfreien Umgebung; bald sind ein oder mehrere Strahlungen entstanden mit unregelmäßig verteilten Chromatinkörnchen. In einem Präparat waren 5 Strahlungen vorhanden mit einer zentralen in 3 Spitzen ausgezogenen Ansammlung gedrängt zusammenliegender Chromatinkörnchen.

$2\frac{1}{2}$ Stunde nach der Befruchtung beginnt hier und da die Teilung in etwas gestörter Weise. Andere Eier zeigen im Innern

verwickelte Mehrfachstrahlungen auch im lebenden Zustand und später unregelmäßige Einschnürungen der Oberfläche.

c. Eier 45 Minuten auf 31° Celsius erwärmt.

Bei Zusatz des Sperma hebt sich die Eihaut noch sofort ab, Befruchtungshügel bilden sich nicht mehr oder nur in einer wenig auffälligen Weise. Infolge der länger andauernden Erwärmung ist ein noch höherer Grad der Überfruchtung als in dem vorhergehenden Versuch erzielt worden, wie sich aus beifolgender Tabelle von Eiern ergiebt, die teils $\frac{1}{4}$, teils $\frac{1}{2}$ teils $\frac{3}{4}$ Stunde nach der Befruchtung abgetötet wurden.

Ei	1	mit	5	Spermakernen.
„	2	„	3	„
„	3	„	3	„
„	4	„	4	„
„	5	„	4	„
„	6	„	5	„
„	7	„	3	„
„	8	„	5	„
„	9	„	3	„
„	10	„	4	„
„	11	„	3	„
„	12	„	3	„
„	13	„	5	„
„	14	„	2	„
„	15	„	4	„
15 Eier		mit	56	Spermakernen.

Normal befruchtete Eier sind bei länger fortgesetzter Erwärmung nicht mehr anzutreffen, selten sind zweifach befruchtete, die meisten enthalten 3 bis 4 Spermakerne, nicht wenige auch deren fünf. In 15 Eier sind zusammen 56 Samenfäden eingedrungen. Bei gleichmäßiger Verteilung der Spermakerne würden etwa 3 bis 4 auf jedes Ei kommen. Entweder finden sie sich eine Viertelstunde nach der Befruchtung über die ganze Eioberfläche verteilt, oder sie sind dicht bei einander eingedrungen und sind dann in einen oder zwei Haufen zusammengedrängt. Zu einer stärker ausgeprägten Strahlenbildung, zu einer Furchung oder auch nur zu einer unregelmäßigen Zerklüftung kam es bei diesem Material

nicht mehr. An Eiern, die 6 Stunden nach der Befruchtung zu späterer Untersuchung abgetötet wurden, hatten sich indessen an den Kernen noch einige wahrnehmbare Veränderungen vollzogen. Der Eikern war in der größeren Anzahl der Objekte geschwunden. Im Dotter fanden sich mehrere 2, 3 bis 4 meist oberflächlich und in einer kleinen körnchenfreien Stelle zusammenliegende Chromatinflecke, die von vergrößerten Spermaköpfen abzuleiten sind, oder es kamen unregelmäßig gestaltete, zuweilen länglich ausgezogene Chromatinflecke zerstreut in der Dotterrinde vor. Am lebenden Material nahm man dementsprechend körnchenfreie Stellen in der Doterrinde wahr, die auch eine schwach angedeutete strahlige Anordnung des Protoplasma zeigten.

d. Eier 1 Stunde auf 31° Celsius erwärmt.

Das Resultat war ziemlich das gleiche, wie im vorausgehenden Fall. Beim Zählen der eingedrungenen Spermatozoen an den mit Boraxkarmin gefärbten Eiern war der Umstand störend, daß sich infolge der länger andauernden Erwärmung im Dotter eine kleine Anzahl von kugligen Körnchen gebildet hatte, welche etwa die Größe von Spermakernen besaßen und sich auch färbten. Indessen war eine Unterscheidung möglich, indem 1) die Färbung der Spermakerne, was im Farbenbild noch besser hervortritt, eine intensivere ist und 2) die Spermakerne nie so kuglig wie die in Rede stehenden Dottergebilde sind. Wir zählten

Ei	1	mit 6	Spermakernen.	Ei	1	mit 2	Spermakernen.
„	2	„ 5	„	„	2	„ 3	„
„	3	„ 1	„	„	3	„ 3	„
„	4	„ 4	„	„	4	„ 5	„
„	5	„ 4	„	„	5	„ 5	„
„	6	„ 7	„	„	6	„ 2	„
„	7	„ 4	„	„	7	„ 5	„
„	8	„ 3	„	„	8	„ 3	„
„	9	„ 5	„	„	9	„ 4	„
„	10	„ 2	„	„	10	„ 6	„
„	11	„ 2	„	„	11	„ 4	„
„	12	„ 5	„	„	12	„ 6	„
12 Eier		mit 48	Spermakernen	„	13	„ 5	„
				„	14	„ 3	„
				„	15	„ 2	„
						58	

Forts. auf S. 101

Transport			58	Spermakerne
Ei	16	mit	8	„
„	17	„	5	„
„	18	„	2	„
„	19	„	4	„
„	20	„	4	„
20 Eier		mit	81	Spermakernen.

Die meisten Eier enthalten jetzt 3, 4 oder 5 Spermatozoen, doch finden sich auch solche, in welche 7 oder 8 eingedrungen sind. Bei 2 Zählungen ergab sich, daß einmal in 12 Eiern 48 Spermakerne, das andere Mal in 20 Eiern 81 Spermakerne nachzuweisen waren. Im Durchschnitt kamen also hier auf jedes Ei 4 Spermatozoen. Dieselben fanden sich am häufigsten zerstreut und oberflächlich in einem kleinen hellen Hof, selten in größerer Anzahl um den exzentrisch gelegenen Eikern gruppiert in einer körnchenfreien Zone. Nach 5 und einer halben Stunde war gewöhnlich der Eikern verschwunden und es fanden sich im Dotter eine oder mehrere Strahlungen zentral oder superfiziell. In ihnen lagen 2, 3 oder 4 zu Gruppen vereinte Spermakerne (Taf. II, Fig. 19). Einen Rest des Eikerns möchten wir in einem sich vom Dotter etwas absetzenden, sich nicht färbenden Haufen körniger Substanz sehen, der zuweilen von Spermakernen umschlossen in einer Strahlung angetroffen wurde.

In anderen Fällen waren die Spermakerne im Dotter isoliert und zerstreut.

Teilungen wurden auch an diesem Material nicht beobachtet.

e. Eier $1\frac{1}{2}$ Stunden auf 31° Celsius erwärmt.

Die Eier waren noch nicht abgestorben, aber in ihrer Lebensenergie in noch höherem Grade, als im vorausgehenden Fall geschädigt, wie sich aus dem Verlauf der Befruchtung schließen ließ. Es drangen wieder mehrere Spermatozoen und zwar am häufigsten 3 bis 4 in ein Ei ein. Es erfolgte aber keine Reaktion von Seiten des Protoplasma; um die Spermakerne bildete sich keine Strahlung, kein körnchenfreier Hof, weder am Anfang des Eindringens, noch im weiteren Verlauf. Die Spermakerne blieben in der Eirinde eingeschlossen, so daß eine Verschmelzung oder Anlagerung an den Eikern nicht eintrat; ferner vergrößerten sie sich nicht durch Imbibition mit Kernsaft. Es bieten daher Eier, die man $\frac{1}{2}$ Stunde und solche, die man 5 Stunden nach der Befruchtung abgetötet hat, einen wenig verschiedenen Anblick dar. Bei letzteren

waren nur die Spermakerne im Durchschnitt ein wenig mehr von der Eioberfläche entfernt. Bei vorgenommener Zählung fand sich:

Ei	1	mit	6	Spermakernen
„	2	„	4	„
„	3	„	3	„
„	4	„	2	„
„	5	„	2	„
„	6	„	4	„
„	7	„	4	„
„	8	„	4	„
„	9	„	3	„
„	10	„	3	„

In 10 Eiern konnten also 35 Spermakerne gezählt werden. Das Mittel ergiebt 3 bis 4 Spermakerne in einer Eizelle. Gegen die Serie d wäre eine geringe Abnahme im Grade der Überfruchtung zu konstatieren.

Zweite Versuchsreihe.

Eier, 5 Minuten in Wasser von verschieden hoher Temperatur erwärmt.

Wasser von 55° Celsius bewirkt rasche Abtötung der Eier. Wenn dieselben nur während 5 Minuten darin erwärmt werden, so bedecken sie sich schon auf ihrer ganzen Oberfläche mit hervorquellenden Eiweißtropfen und verändern total ihr Aussehen und ihr inneres Gefüge.

Von diesem Stadium ausgehend haben wir sich das Wasser allmählich abkühlen lassen und bei 14 verschiedenen Temperaturgraden Reagensröhrchen mit Eiern während 5 Minuten erwärmt. Sofort nach der Herausnahme wurde das Eiquantum im Uhrschälchen befruchtet, die jetzt eintretenden Veränderungen wurden an einer kleinen Probe, die auf einem Objektträger mit einem Deckgläschen vorsichtig bedeckt wurde, bei starker Vergrößerung verfolgt und in's Tagebuch notiert. Da diese Versuchsserie nicht in Pikrinessigsäure konserviert wurde, konnte ein genaueres Studium der inneren Vorgänge hier nicht Platz greifen. Wir beschränken uns daher darauf, die Tagebuchnotizen mitzuteilen.

Erster Versuch.

Ein Röhrchen mit Eiern wurde während 5 Minuten in Wasser von 50 Grad Celsius erwärmt. Aus dem Dotter waren jetzt

keine Eiweißtropfen mehr ausgetreten. Bei Vornahme der Befruchtung bewegten sich die Spermatozoen mit Lebhaftigkeit im Wasser, schienen aber in das Ei nicht einzudringen, da die Dotterhaut sich nicht abhob und kein Befruchtungshügel gebildet wurde.

Zweiter Versuch.

Erwärmung der Eier während 5 Minuten bei 47° Celsius. Infolge derselben hatten sich keine Eiweißtropfen gebildet. Bei Zusatz von Sperma wurde die Dotterhaut nicht abgehoben und kein Befruchtungshügel hervorgerufen. Indessen bedeckten sich noch jetzt nachträglich einige Eier mit Eiweißtropfen und wurden in ihrem inneren Gefüge verändert.

Dritter Versuch.

Erwärmung der Eier bei 45° Celsius 5 Minuten. Das Resultat dasselbe wie oben. Auch jetzt fand eine nachträgliche Verquellung bei einer kleinen Anzahl von Eiern nach Vornahme des Spermazusatzes statt.

Vierter und fünfter Versuch.

Erwärmung bei 42 resp. bei 41° Celsius 5 Minuten. Eier ohne Verquellung. Dotterhaut nicht abgehoben.

Sechster Versuch.

Erwärmung bei 39° Celsius 5 Minuten. Jetzt wurde bei einem Teil der Eier die Eihaut ein wenig abgehoben, was als Folge des Eindringens von einem oder mehreren Spermatozoen aufgefaßt werden muß. Weitere Veränderungen konnten indessen nicht wahrgenommen werden. Am anderen Tage waren die Eier in Zerfall begriffen ohne Anzeichen einer stattgefundenen Entwicklung.

Siebenter Versuch.

Erwärmung bei 37° Celsius 5 Minuten. Die Eihaut hob sich bei einigen Eiern deutlich, bei andern weniger deutlich ab Zahlreiche Befruchtungshügel, deren zuweilen zehn gezählt werden konnten, bedeckten die Oberfläche des Dotters an verschiedenen Punkten. Sie waren breit und hoch und wurden langsam unter Veränderung ihrer Form wieder in den Dotter aufgenommen.

Achter und neunter Versuch.

Erwärmung bei 36 resp. 55° Celsius 5 Minuten. Die Eihaut hob sich überall wie bei normaler Befruchtung ab und es

bildeten sich fast an jedem Ei mehrere breite und hohe Befruchtungshügel. Indessen erfolgte keine normale Weiterentwicklung. Weder bildeten sich Strahlungen im Dotter, noch kam es zur Teilung. Am anderen Tag waren die Objekte abgestorben und zerfallen.

Zehnter und elfter Versuch.

Erwärmung bei 34 resp. 32° Celsius. Es erfolgte Abhebung der Eihaut. Ein oder zwei Befruchtungshügel waren nachweisbar. Die Eier entwickelten sich zum Teil in unregelmäßiger Weise weiter. Nach 4 Stunden beobachteten wir spärliche Zweiteilungen, wobei die Teilstücke häufig von sehr ungleicher Größe waren, bei anderen waren mehrere höckerartige Knospen entstanden; der größte Teil der Eier zeigte im Innern nur undeutliche Strahlung, Hantelfiguren, Tetraster oder Triaster oder ließ den Kern als eine verwaschene helle Stelle erkennen. Am anderen Tag fanden sich unter einer größeren Zahl zerfallener Eier nicht wenige normal entwickelte Blastulae vor; andere waren mißgebildet zu Flimmerlarven, in deren Innerem sich anstatt Gallerte kleinere und größere glänzende Kügelchen vorfanden.

Zwölfter Versuch.

Erwärmung bei 31° Celsius während 5 Minuten. Die Befruchtung erfolgte anscheinend normal. Nach einigen Stunden teilten sich die Eier in 2, seltener in 4 oder 3 oder 6 Stücke. Die Strahlung vor und während der Teilungsstadien war schwächer als normal. Am andern Tag schwammen meist normal gebildete Blastulae in den Zuchtgläsern herum. Eine geringe Anzahl von Flimmerlarven war monströs entwickelt.

Fassen wir das Ergebnis aus dieser Versuchsserie zusammen, so ist dasselbe im allgemeinen ein ähnliches, wie dasjenige der ersten Serie. Wie dort verlängerte Wärmewirkung, so wirkt hier kurz vorübergehende Wärme, je intensiver dieselbe ist, um so mehr störend auf den Befruchtungsvorgang ein. Bei Temperaturen bis zu 31° Celsius, wenn sie nur während 5 Minuten einwirken, ist der Befruchtungsvorgang normal. Bei 32 bis 36° Celsius erfolgt Überfruchtung in steigender Progression mit Abhebung der Eihaut. Bei 37° Celsius ist die Überfruchtung eine sehr beträchtliche, wobei zugleich infolge beginnender Wärmestarre des Protoplasma die Eihaut sich ein wenig abzuheben beginnt. Bei 39 bis 47° Celsius scheint Befruchtung auszubleiben, da sich die Eihaut nicht mehr

abhebt und keine Befruchtungshügel entstehen. Bei höheren Temperaturen beginnt der Dotter zu verquellen und in seiner Struktur in wahrnehmbarer Weise geschädigt zu werden.

Drittes Kapitel.

Beeinflussung der Geschlechtsprodukte durch mechanische Insulte.

Es ist eine bekannte Erscheinung, daß die Protoplasmabewegung verlangsamt oder vorübergehend, wenn nicht dauernd aufgehoben wird, wenn eine Zelle erschüttert oder gequetscht, oder in irgend einer anderen Weise mechanisch verletzt wird. Um nun auch in dieser Weise die Befruchtungserscheinungen zu beeinflussen, wurde eine größere Quantität Eier in einem mit Meerwasser halb gefüllten Reagensröhrchen zwanzig bis dreißig Minuten lang sehr heftig geschüttelt, so daß sich die Flüssigkeit milchig trübte, weil sich die Gallerthüllen von der Dotterhaut ablösten. Infolge der heftigen Erschütterungen wurden einige Eier verletzt, indem die Dotterhaut hie und da platzte und protoplasmatischer Inhalt aus dem Riß austrat. Das entleerte Protoplasma nahm gewöhnlich sofort Kugelgestalt an und war entweder mit der Eizelle durch einen breiten Stiel verbunden oder bildete einen selbständigen, bald größeren, bald kleineren kugeligen Körper für sich. Zuweilen war auch der Eikern in das ausgetretene Protoplasma mit hineingeraten. Der weitaus größte Teil der Eier aber blieb bei der angegebenen Behandlung, da die Hülle ziemlich fest und elastisch ist, vollkommen unverletzt, abgesehen von der Abstreifung der Gallerte.

Was geschieht nun, wenn ein derartiges Eimaterial sofort nach stattgehabter Erschütterung befruchtet wird?

Wir untersuchten diese Frage sowohl am lebenden Objekt, als auch an Eiern, die auf 3 verschiedenen Stadien in Pikrinessigsäure eingelegt worden waren. Ein Teil war 20 Minuten, ein zweiter 1 Stunde und ein dritter ¾ Stunde nach der Befruchtung abgetötet worden.

Es verdient gleich am Anfang hervorgehoben zu werden, daß trotz der hochgradigen Erschütterung bei dem größten Teil der

Eier normale Befruchtung erfolgte. Die Eihaut hob sich scharf ab, nur ein Samenfaden drang in den Dotter ein und umgab sich mit einer ausgeprägten Strahlenbildung; in der normalen Zeit erfolgte die Kopulation der Kerne, die Spindelbildung und Teilung. Nur darin unterschieden sich die Eier von solchen, die nicht geschüttelt worden waren, daß ihrer Eihaut keine Samenfäden aufsaßen, weil die Gallerte abgelöst war.

Bei einem kleineren Teil indessen und namentlich bei allen den Eiern, welche infolge des Schüttelns eine Verletzung erlitten hatten, zeigten sich pathologische Erscheinungen. Dieselben lassen sich in zwei Gruppen sondern, je nachdem die Samenfäden in größerer Anzahl 1) in ein Ei oder 2) in einen abgesprengten kernlosen Teil eines Eies eingedrungen waren.

1) Eier mit mehr als 1 Samenfaden.

In solche Eier, welche durch das Schütteln gelitten hatten, was sich schon äußerlich dadurch bemerkbar machen konnte, daß sich durch einen Riß in der Umhüllung Protoplasmateile abgelöst hatten, drangen zwei, drei und mehr Spermatozoen von verschiedenen Stellen aus ein. Bei ihrem Eintritt hob sich die Dotterhaut nur wenig oder gar nicht vom Protoplasma ab. Es bildeten sich Spermakerne, die von einer ausgeprägten Strahlung umhüllt waren und in verschiedener Zahl mit dem Eikern kopulierten. Je nachdem entstanden mannichfache Kernformen, welche den durch Nikotinbehandlung hervorgerufenen entsprachen. So fanden wir öfters, einen wohl durch das Eindringen zweier Samenfäden hervorgerufenen Tetraster. Vier den Ecken eines Quadrats entsprechende Strahlungen sind durch 4 Spindeln verbunden und umschließen 2 Streifen von Chromatinkörnchen, die ein Kreuz darstellen, dessen Schenkel mit ihren Enden auf die Mitte je einer Spindel treffen.

Eine modifizierte Form der Vierstrahlung, die wir auch schon bei anderer Gelegenheit (Tafel I Figur 10) beschrieben haben, ist uns auch hier wieder begegnet. Es stoßen drei Spindeln in 3 Strahlungen zusammen. Die in ihrer Mitte verteilten Chromatinkörnchen bilden die Form eines Y. Eine vierte Spindel geht von einer Strahlung des Triasters noch zu einer isoliert gelegenen Strahlung und ist in ihrer Mitte auch wieder mit Chromatinkörnchen versehen.

Auch komplizierter gebaute Kernfiguren kamen zur Beobachtung. In einem Falle war mit einem Tetraster noch eine fünfte

Strahlung verbunden. Außerdem fanden sich im Dotter noch drei isolierte Spermakerne, welche an Größe bedeutend zugenommen hatten. Sie stellten mit Kernsaft gefüllte, ovale Bläschen dar, in deren Mitte ein rot gefärbter Chromatinkörper, gleichsam ein Nucleolus, eingeschlossen war. An den beiden Polen des Ovals waren 2 Strahlensysteme entstanden. Aus jedem eingedrungenen Spermatozoon war somit auf einem weiter vorgerückten Stadium ein Spermaamphiaster hervorgegangen.

Wenn 2 Stunden nach der Befruchtung die Teilung beginnt, kann man wieder die verschiedensten Zustände beobachten, Eier, die anstatt in zwei gleich in 4, 5 oder 6 Stücke zerfallen, oder die sich auf ihrer Oberfläche mit kleineren und größeren Körpern bedecken, welche sich erst successive selbständig machen.

Übrigens ist es keineswegs eine Notwendigkeit, daß, wenn ein Ei verletzt ist, nun auch mehrere Samenfäden eindringen. Nicht selten haben wir auch Eier gesehen, die, obwohl ihrer Oberfläche ein hervorgequollener Protoplasmahöcker aufsaß, im Innern nur eine Spermastrahlung oder auf einem späteren Stadium nur eine Spindel zeigten. Es kann ein Ei sogar sehr bedeutende Substanzverluste erlitten haben und auf die Hälfte oder ein Drittel seines Volums reduziert worden sein, ohne deshalb, wenn es durch ein Spermatozoon allein befruchtet worden ist, seine normale Entwicklungsfähigkeit eingebüßt zu haben. So haben wir Zwergeier sich regulär teilen und sich zu außerordentlich kleinen Gastrulae umbilden sehen.

2) Abgesprengte Teile eines Eies.

Bei der Untersuchung des Einflusses, welchen mechanische Mittel auf die Eier ausüben, haben wir auch die interessante Erscheinung kennen gelernt, daß abgesprengte kernlose Protoplasmateile des Eies in Meerwasser noch eine gewisse Lebensfähigkeit geraume Zeit bewahren und daß die Spermatozoen sich in dieselben nicht minder als in die intakten Eier einbohren. Wenn man zehn Minuten nach Vornahme der Befruchtung sein Augenmerk auch auf die Eifragmente richtet, so wird man in ihnen je nach ihrer Größe 1, 2 oder mehr sehr deutlich ausgeprägte Strahlungen Taf. II Fig. 17 beobachten können. In einem Falle zählten wir deren sieben. Dieselben erhielten sich in der Weise längere Zeit. Die Eifragmente hatten sich dabei mit einer zarten, dem Protoplasma dicht aufliegenden Hülle umgeben. Bei Untersuchung

mit Reagentien und an Tinktionspräparaten läßt sich in jeder Strahlung ein kleiner Spermakern nachweisen.

Nach einer und weiterhin noch nach $1\frac{1}{2}$ Stunden haben die Spermastrahlungen Veränderungen erfahren. Sie haben sich in kleine Doppelstrahlungen umgewandelt. Weiteren Aufschluß geben Tinktionspräparate. Die Spermakerne, welche sich ein wenig vergrößert haben, sind oval oder spindelig geworden und zeigen an beiden Enden eine kleine Spitze aus einer sich in Karmin nicht färbenden Substanz, welche wie die Polsubstanz bei der Kernteilung die Mitte je einer der Doppelstrahlungen einnimmt (Taf. II Fig. 15). Außer diesen im Plasma regellos verteilten Amphiastern, deren wir in einem Fall drei zählten, können neben ihnen auch noch isolierte Strahlungen (Fig. 15 *a*) vorkommen, die dadurch bemerkenswert sind, daß in ihnen sich keine färbbaren Körper oder kernartigen Bestandteile nachweisen lassen.

Nach Ablauf von $1\frac{1}{2}$ bis 2 Stunden ist an den Spermaamphiastern noch eine faserige Metamorphose eingetreten, zu deren Illustration Taf. II Fig. 18 diene. Sie zeigt uns vier aus wenigen achromatischen Fasern zusammengesetzte Spindeln, von welchen eine mit ihrer Längsaxe senkrecht zur Sehaxe des Beobachters gestellt ist. In der Mitte jeder Faserspindel liegt die färbbare Substanz als ein einziges, größeres, rundliches oder ovales Korn.

Was später aus diesen befruchteten Eifragmenten ohne Eikern wird, ist nicht weiter verfolgt worden. Wahrscheinlich werden sie nach einiger Zeit absterben und zerfallen.

Anmerkung: Der Schluß der Arbeit, bestehend aus einem allgemeinen Teil, folgt im nächsten Heft.

Tafelerklärung.

Für Tafel III—VI gelten folgende Bezeichnungen:

β	Chloralbehandlung	1	Minute	nach	Besamung
γ	„	$1\frac{1}{2}$	Minuten	„	„
δ	„	5	„	„	„
ε	„	15	„	„	„

Die beigefügten Zahlen beziehen sich auf die Zeit, welche zwischen Besamung und Konservierung des Materials verflossen war.

β^1 abgetötet nach 30 Min.	γ^1 35 Min.	δ^1 35 Min.	ε^1 35 Min.
β^2 „ „ 55 „	γ^2 60 „	δ^2 60 „	ε^2 60 „
β^3 „ „ 90 „	γ^3 150 „	δ^3 185 „	ε^3 210 „
β^4 „ „ 150 „	γ^4 255 „	δ^4 325 „	ε^4 240—300 „
β^5 „ „ 190 „	γ^5 325 „		
β^6 „ „ 360 „			

Tafel I.

Fig. 1—5. Eier von Strongylocentrotus lividus, die in einer Nicotinlösung (1 Tropfen Extrakt auf 200 Wasser) 10 Minuten gelegen, mit Samen befruchtet und darauf in verschiedenen Intervallen abgetötet worden sind. Bei Vergrößerung F. Oc. 1 (Zeiß) gezeichnet und etwas verkleinert.

Fig. 1 und 2. Die Eier wurden 15 Minuten nach Vornahme der Befruchtung abgetötet.

Fig. 3. Das Ei wurde 40 Minuten nach Vornahme der Befruchtung abgetötet.

Fig. 4. Eine Stunde, 20 Minuten nach der Befruchtung abgetötet.

Fig. 5. Zwei Stunden 10 Minuten nach der Befruchtung abgetötet.

Fig. 6—10. Kernfiguren von Eiern, die in einer Nikotinlösung (1 Tropfen Extrakt auf 400 Wasser) 15 Minuten gelegen, befruchtet und nach 1 Stunde 30 Minuten abgetötet worden sind. Bei Vergrößerung F. Oc. 2 (Zeiß) gezeichnet.

Fig. 11. Spermakerne überfruchteter Eier, *a*, *b*, *c*, *d*, die in einer Nikotinlösung (1 Tropfen Extrakt auf 100 Wasser) gelegen ha-

ben, befruchtet und nach Ablauf mehrerer Stunden abgetötet worden sind, in Umbildung zu Spermaspindeln. Bei Vergrößerung. 1./18. Homogene Immersion. Oc. $2\frac{1}{2}$ (Zeiß) gezeichnet.

Fig. 12. Kernfiguren von einem Ei, das 5 Minuten in einer Nikotinlösung (1 Tropfen Extrakt auf 200 Wasser) gelegen hat, befruchtet und nach 2 Stunden abgetötet worden ist. Bei Vergrößerung F. Oc. ^{2} (Zeiß) gezeichnet.

Fig. 13. Mehrfach befruchteter Kern, der sich zur Umbildung in einen Spindelkomplex anschickt.

Fig. 14. Kernfigur eines Eies, das 10 Minuten in einer Nikotinlösung (1 : 200) gelegen hat, befruchtet und nach 3 Stunden 10 Minuten abgetötet worden ist. Bei Vergrößerung F. Oc. ^{2} (Zeiß) gezeichnet.

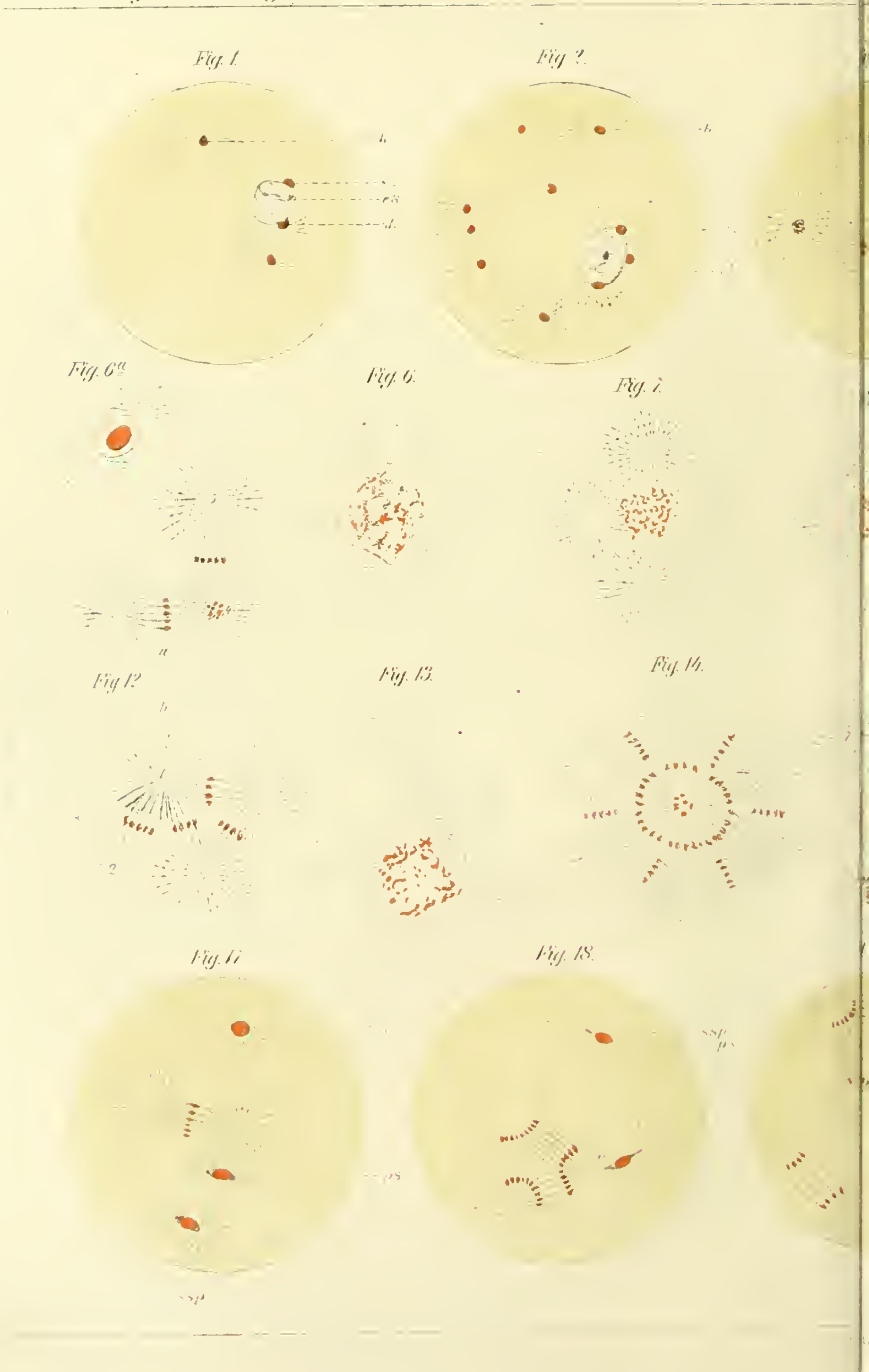
Fig. 15. Kernfigur eines Eies, das wie oben behandelt und nach 3 Stunden abgetötet worden ist. Bei Vergrößerung F. Oc. ^{2} (Zeiß) gezeichnet.

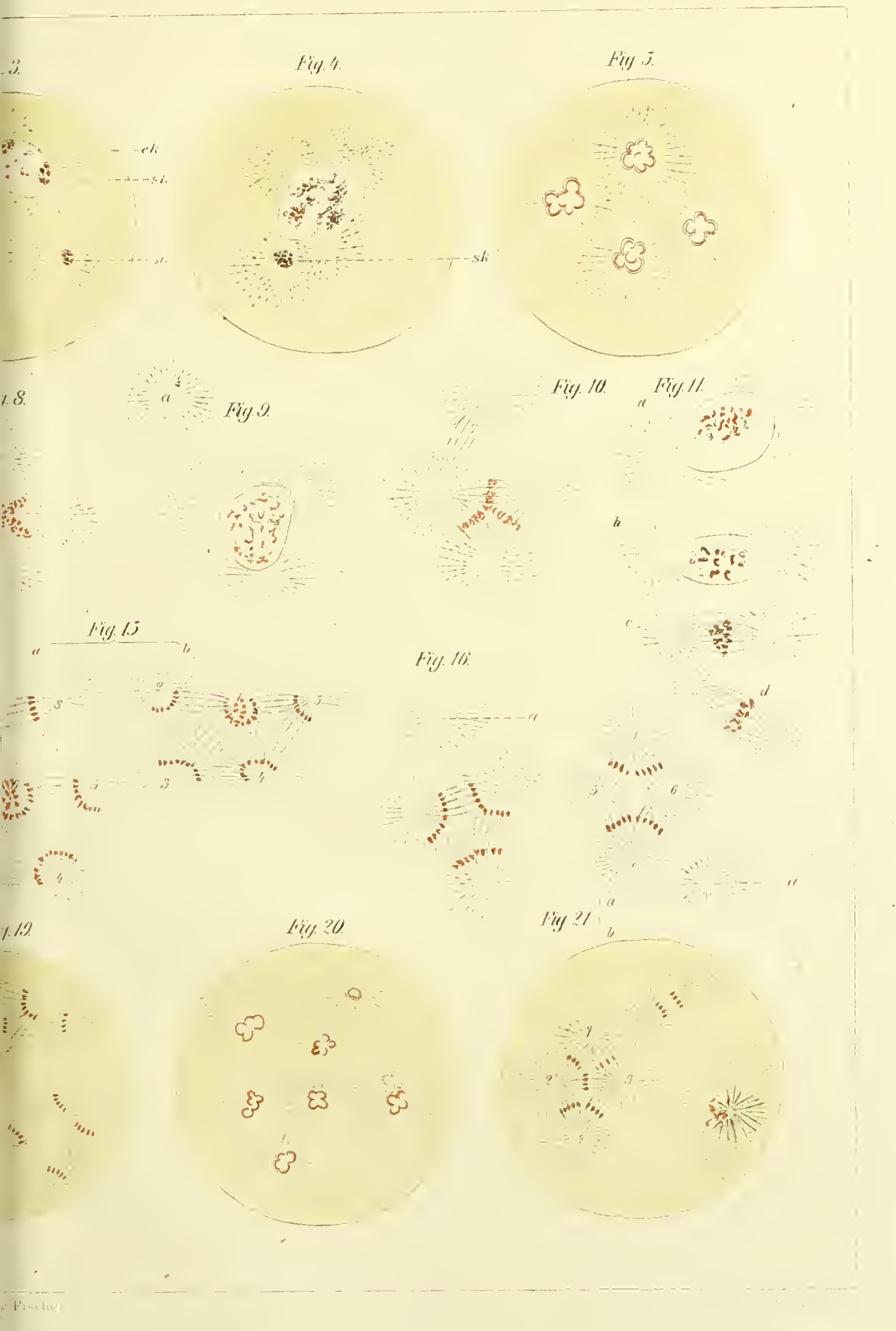
Fig. 16—18. Kernfiguren von Eiern, die 15 Minuten in einer Nikotinlösung (1 : 400) gelegen haben, befruchtet und nach 2 Stunden 45 Minuten abgetötet worden sind. Bei Vergrößerung F. Oc. ^{2} (Zeiß) gezeichnet und etwas verkleinert.

Fig. 19. Kernfiguren eines Eies, das in einer Nikotinlösung (1 : 100) gelegen hat. Sie bestehen aus einem Spindelkomplex und 5 einzelnen in Teilung begriffenen Spermaspindeln.

Fig. 20. Kernfiguren eines Eies, das in einer Nikotinlösung (1 : 200) 10 Minuten gelegen hat, befruchtet und nach 3 Stunden 10 Minuten abgetötet worden ist. Bei Vergrößerung F. Oc. ^{2} (Zeiß) gezeichnet.

Fig. 21. Kernfiguren eines Eies, das wie oben behandelt worden ist. Bei Vergrößerung F. Oc. ^{2} (Zeiß) gezeichnet und etwas verkleinert.


Fig. 1.
Fig. 2.
Fig. 6a
Fig. 6.
Fig. 7.
Fig. 12.
Fig. 13.
Fig. 14.
Fig. 17.
Fig. 18.


.3.
Fig. 4.
Fig. 5.
ek
si
st
sk
1.8.
a
Fig. 9.
Fig. 10.
Fig. 11.
a
b
c
d
Fig. 15
a
b
Fig. 16.
a
1
2
3
4
5
6
Fig. 20.
Fig. 21
a
b
.19.
1
2
3

Tafel II.

Die meisten Figuren sind bei Vergrößerung F Oc.^{2} (Zeiß) gezeichnet und etwas verkleinert. Fig. 8, 9, 10, 12, 13, 14 sind bei $\frac{1}{18}$ Vergrößerung Homogene Imm. Oc. $2\frac{1}{2}$ (Zeiß) gezeichnet.

Fig. 1. Ein Ei, das 35 Minuten in einer 0,5 % Chlorallösung gelegen hat, einige Minuten nach der Befruchtung.

Fig. 2. Ein Ei, das 50 Minuten in einer 0,5 % Chlorallösung gelegen hat, 2 Stunden nach der Befruchtung.

Fig. 3. Ein Ei, das 5 Minuten in einer 0,5 % Chlorallösung gelegen hat, 4 Stunden nach der Befruchtung.

Fig. 4. Ein Ei, das 20 Minuten in einer 0,05 % Chininlösung gelegen hat, 6 Stunden nach Vornahme der Befruchtung.

Fig. 5. Ein Ei, das 20 Minuten in einer 0,05 % Chininlösung gelegen hat, 3 Stunden nach der Befruchtung.

Fig. 6. Ein Ei, das 10 Minuten in Wasser von 31° Celsius erwärmt wurde, $1\frac{1}{4}$ Stunde nach der Befruchtung.

Fig. 7. Ein Ei, das 20 Minuten in Wasser von 31° Celsius erwärmt wurde, $1\frac{1}{4}$ Stunde nach der Befruchtung.

Fig. 8—10. Spermakerne und Eikerne von Eiern, die 10 Minuten in Wasser von 31° Celsius erwärmt wurden, 2 Stunden nach der Befruchtung.

Fig. 11. Stück eines Eies, das 15 Minuten in einer 0,025 % Kokainlösung gelegen hat, kurze Zeit nach Vornahme der Befruchtung.

Fig. 12. Kerne eines Eies, das 20 Minuten in Wasser von 31° Celsius erwärmt wurde, 2 Stunden nach der Befruchtung.

Fig. 13. Kernfiguren eines Eies, das 10 Minuten in Wasser von 31° Celsius erwärmt wurde, 2 Stunden nach der Befruchtung.

Fig. 14. Kernfiguren eines Eies, das 20 Minuten in Wasser von 31° Celsius erwärmt wurde, $1\frac{1}{4}$ Stunde nach der Befruchtung.

Fig. 15. Stück eines Eies, das durch heftiges Schütteln abgesprengt und darauf befruchtet worden ist, 2 Stunden nach Vornahme der Befruchtung.

Fig. 16. Kernfigur eines Eies, das 20 Minuten lang auf 31° Celsius erwärmt wurde, $1\frac{1}{4}$ Stunde nach der Befruchtung.

Fig. 17. Kleinstes Stück eines Eies, das durch heftiges Schütteln abgesprengt und darauf befruchtet worden ist. 20 Minuten nach der Befruchtung.

Fig. 18. Stück eines Eies, das durch heftiges Schütteln abgesprengt und darauf befruchtet worden ist, 2 Stunden nach Vornahme der Befruchtung.

Fig. 19. Kerne eines Eies, das längere Zeit in Wasser von 31° Celsius erwärmt wurde, mehrere Stunden nach der Befruchtung.

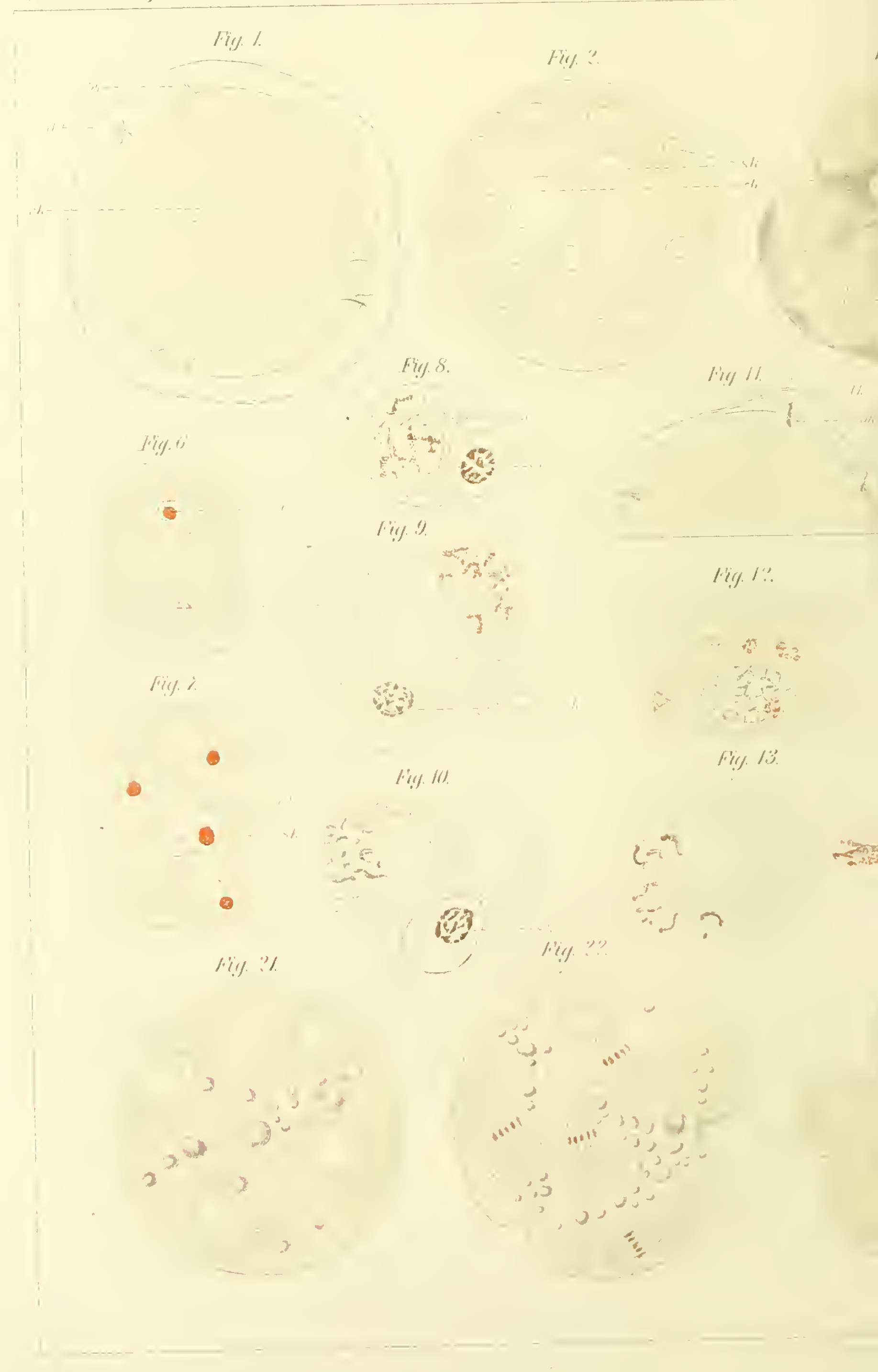
Fig. 20a und b. Kernfigur eines Eies, das 10 Minuten in einer Nikotinlösung (1 : 200) gelegen hat, 2 Stunden nach Vornahme der Befruchtung abgetötet.

Fig. 21 u. 22. Eier, die $1\frac{1}{2}$ Stunden nach der Befruchtung in 0,05 % Chininlösung 20 Minuten gelegen haben, nach 2 Stunden 10 Minuten abgetötet.

Fig. 23. Ei, das in einer 0,05 % Kokainlösung 5 Minuten gelegen, 1 Stunde 40 Minuten nach Vornahme der Befruchtung.

Fig. 24. Ein Ei, das $1\frac{1}{2}$ Stunde nach der Befruchtung in einer 0,05 % Chininlösung 20 Minuten gelegen hat, nach 2 Stunden 10 Minuten abgetötet.

Fig. 25. Ein Ei, das 1 Stunde nach der Befruchtung, 10 Minuten in einer 0,5 % Chlorallösung gelegen hat, nach 3 Stunden abgetötet.


Fig. 1.
Fig. 2.
Fig. 6.
Fig. 7.
Fig. 8.
Fig. 9.
Fig. 10.
Fig. 11.
Fig. 12.
Fig. 13.
Fig. 21.
Fig. 22.

Taf. II.

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 17.

Fig. 14

Fig. 20a

Fig. 18.

Fig. 15.

ps

sk

sk

Fig. 20b

Fig. 16.

Fig. 19.

Fig. 25.

23.

Fig. 24.

v. Fisch

Tafel III.

Die Figuren 2, 3, 4 sind bei Vergrößerung Homogene Immersion $\frac{1}{18}$ Oc. $2\frac{1}{2}$ (Zeiß), die Figuren 1, 5—10 bei Vergrößerung F. Oc. ^{2} (Zeiß) gezeichnet.

Fig. 1—6. Kernfiguren von Eiern, die $1\frac{1}{2}$ Stunde nach Vornahme der Befruchtung 20 Minuten in einer 0,05 % Chininlösung gelegen haben und nach Herausnahme aus der Chininlösung teils nach 1 Stunde, teils nach 2 Stunden abgetötet worden sind.

Fig. 7—11. Kernfiguren von Eiern, die 1 Stunde nach Vornahme der Befruchtung 10 Minuten in einer 0,5 % Chlorallösung gelegen haben und nach Herausnahme aus derselben, teils nach $\frac{3}{4}$, teils nach 2, teils nach 3 Stunden abgetötet worden sind.

Fig. 12. Verschiedene Umbildungsstadien des Spermakerns bis zur Ordensternfigur. β^4.

Fig. 13—24 sind bei Vergrößerung $\frac{1}{18}$ homog. Imm. Oc. II (Zeiß) gezeichnet.

Fig. 13. Vierpoliger Eikern stark vergrößert. Tubus auf 200 mm verlängert. β^4.

Fig. 14—16. Zusammengehörige Ei- und Spermakerne verschiedener Eier in ihren natürlichen Abständen gezeichnet. Fig. 14. β^1. Fig. 15. β^2. Fig. 16. β^3.

Fig. 17. Hälfte eines Eies β^4. Eikern (*o*) in Fächerform vom Fächerende aus gesehen, Spermakern (*sp*) bläschenförmig mit 2 Strahlungen.

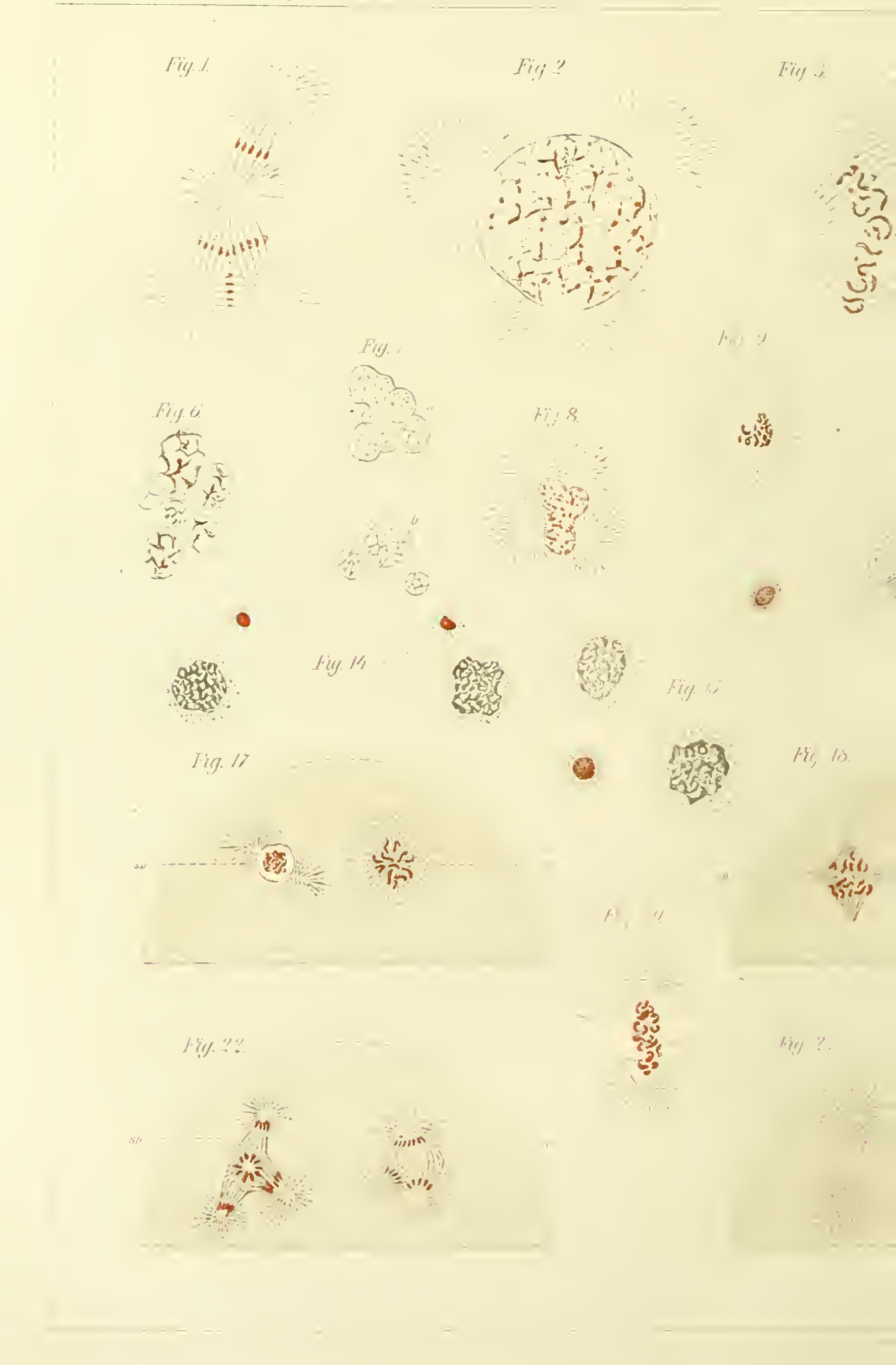
Fig. 18. Desgl. Eikern (fälschlich *sp* bezeichnet) in der Umbildung von der Fächerform zur 4strahligen Gestalt, Spermakern (fälschlich *o* bezeichnet) 3strahlig.

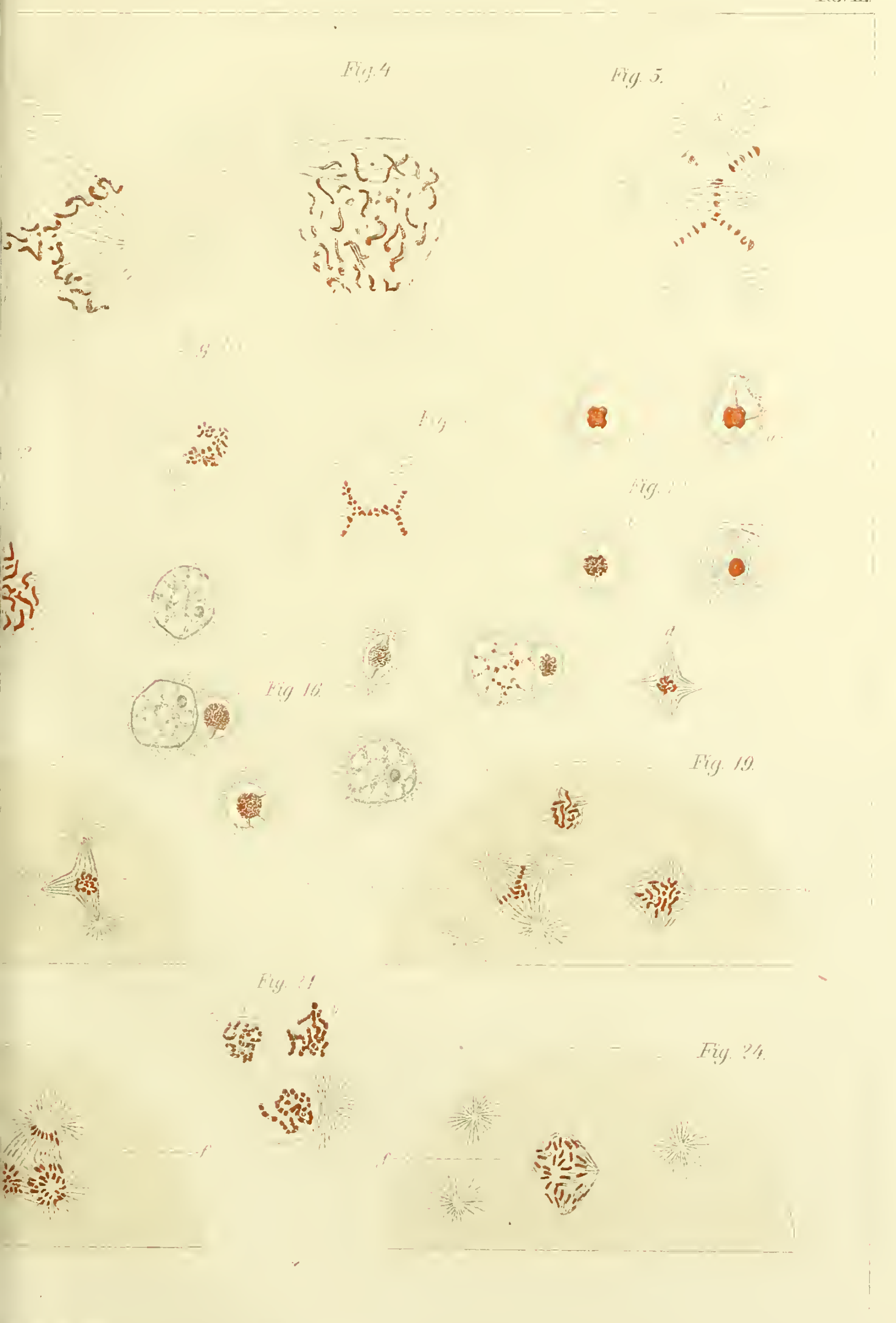
Fig. 19. Desgl. Eikern in vierstrahliger Form; 2 Spermakerne, davon einer mit 3 polständigen Plasmastrahlungen und einer vierten in einiger Entfernung gelegenen Strahlung.

Fig. 20 und 21. Umbildung eines Spermakerns in einen in Windungen gelegten Kernfaden; derselbe schien in Fig. 20 in einzelne U-förmig gekrümmte Teile zerlegt zu sein. β^4.

Fig. 22. Hälfte eines Eies β^5; Eikern und Spermakern in Rosettenform mit polaren Strahlungen.

Fig. 23 und 24. Hälfte eines Eies β^5; 1 Kern wahrscheinlich aus Vereinigung von Ei- und Spermakern entstanden, Strahlungen im Protoplasma unabhängig vom Kern.


Fig. 1.
Fig. 2.
Fig. 3.
Fig. 6.
Fig. 8.
Fig. 14.
Fig. 17.
Fig. 22.



Lith. Anst. v. E. C. Müller, Jena.

Tafel IV.

Alle Figuren auf Tafel IV—VII sind bei Vergrößerung Homogene Imm. $\frac{1}{18}$ Oc. 2 (Zeiß) gezeichnet.

Fig. 1. 2 Rosettenkerne (Ei- und Spermakern), der eine mit 3, der andere mit 4 Ecken, von denen 2 einander genähert sind, aus einer Eizelle des Stadium 5 β.

Fig. 2. Ei mit 2 Kernen, welche in Umbildung zur Rosettenform begriffen sind. Im Protoplasma sind 4 Strahlungen zu sehen, von denen 3 von den Kernen unabhängig sind, die vierte im Anschluß an einen Kern (Spermakern ?) sich entwickelt hat. 5 β.

Fig. 3. Ei mit dendritischer Protoplasmafigur, in welcher 2 aus je 3 Kernhaufen bestehende Gruppen eingebettet sind. Endäste der Figur mit Strahlung versehen. Stadium 5 β.

Fig. 4. Ein ähnliches Ei mit 2 das eine Mal aus 2, das andere Mal aus 3 Kernen bestehenden Gruppen; nach einer am Meere verfertigten Skizze gezeichnet. Stadium 5 β.

Fig. 5. Konjugierte Kerne, *a* in Umbildung zur Rosettenform begriffen, im Protoplasma 2 symmetrische Strahlungen. *b* Konjugation noch nicht zum Abschluß gelangt. Stadium 5 β.

Fig. 6. Konjugierte Kerne. *a* 4 polige Rosettenform mit Strahlungen an den Polen, *b* Vorstadium zur 3 poligen Rosettenform, Chromatin zu einer unregelmäßigen Kernplatte angeordnet, *c* Kern granuliert, anscheinend im Begriff durch Einschnürung in 3 Teile zu zerfallen. Bei Ei *c* war ein zweiter Spermakern nachweisbar.

Fig. 7 und 8. Die durch Teilung des Spermakerns und des Eikerns entstandenen Kerne sind im Begriff von neuem zu verschmelzen, in Figur 7 sind so je ein größerer und ein kleinerer Kern entstanden, in Fig. 8 sind auf der einen Seite 2, auf der andern Seite 3 Kerne.

Fig. 9. Die rekonstruierten, zur Fächerform differenzierten Kerne haben je ein kleineres Stück abgespalten. Stad. 6 β.

Fig. 10. Zweimal zwei Kerne aus Teilung und partieller Wiedervereinigung von Spermakern und Eikern entstanden. Stad. 6 β.

Fig. 11. Die rekonstruierten Kerne haben sich in ein großes und ein kleines Stück geteilt. Stad. 6 β.

Fig. 12 und 13. Eikern und Spermakern in Rekonstruktion begriffen. Stad. 5 β und 6 β.

Fig. 14. Rekonstruierter Ei- und Spermakern in chromatischer Metamorphose. Stad. 6 β.

Fig. 15. Rekonstruierter Ei- und Spermakern. Stad. 5 β.

Fig. 16. Rekonstruierter Ei- und Spermakern in chromatischer Metamorphose mit beginnender Strahlung. 6 β.

Fig. 17 und 18. Ei- und Spermakern rekonstruiert und in Fächerform übergeführt; jeder Fächer in mehr oder minder vorgeschrittener Teilung. Stad. 6 β.

Fig. 19. Die aus der Teilung hervorgegangenen Kerne. Stad. 6β.

Fig. 20. Ei mit Geschlechtskernen, welche in die Rosettenform übergeführt sind, der eine zweipolig mit unvollkommen entwickeltem dritten Pol, der andere 3polig. Stad. 5 β.

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 5b.

Fig. 7.

Fig. 9.

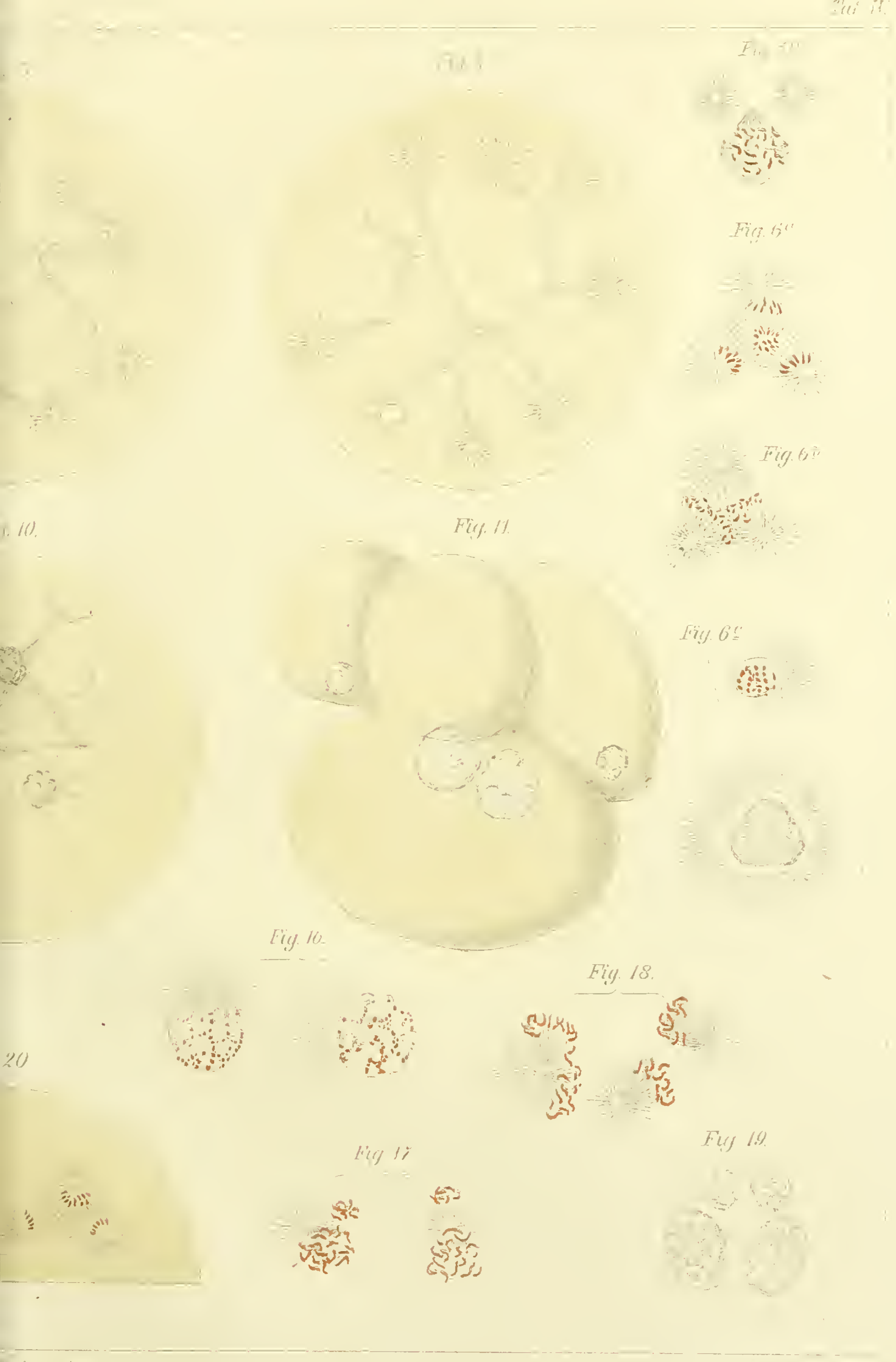
Fig. 8

Fig. 14

Fig. 12.

Fig. 13

Fig. 15.


Taf. II.
Fig. 6a.
Fig. 6b.
Fig. 6c.
Fig. 11.
Fig. 16.
Fig. 18.
Fig. 17.
Fig. 19.
20

Tafel V.

Fig. 1. Verschiedene Umwandlungsformen der Spermakerne. Stadium γ^3.

Fig. 2. 3 Eikerne mit den zugehörigen Spermakernen in Umbildung. Stad. γ^3.

Fig. 3. Ei- und Spermakerne in Pseudotetraster verwandelt. Stad. γ^3.

Fig. 4. Aus Konjugation hervorgegangene Furchungskerne. *a* dreilappig ohne achromatische Faserung, *b* und *c* polyedrisch faserig differenziert. Stad. γ^3.

Fig. 5. Ei- und Spermakerne geteilt in Kernbläschen, welche nunmehr in Rekonstruktion begriffen sind. Stad. γ^3.

Fig. 6. Unvollkommen abgefurchtes Ei aus Stad. β^5.

Fig. 7. 2 mit 3 chromatisch differenzierten Kernen ausgerüstete Eier zur Hälfte dargestellt. Stad. β^5.

Fig. 8. 2 aus einem Ei stammende faserig differenzierte Kerne (wahrscheinlich aus Rekonstruktion von Ei- und Spermakern hervorgegangen). γ^4.

Fig. 9. Wahrscheinlich rekonstruierte Ei- und Spermakerne in chromatischer Umbildung begriffen; bei *c* und *d* zeigt 1 Kern beginnende Abschnürung. γ^4.

Fig. 10. 3 Kerne entweder aus einem konjugierten Kern durch Teilung hervorgegangen oder dadurch, daß einer der beiden nicht konjugierten Kerne sich geteilt hat. γ^4.

Fig. 11 wie Fig. 8. γ^5.

Fig. 12, 13, 14. Eier in Knospenteilung begriffen, Stad. γ^5; in Fig. 12 sind nur die Kerne mit umgebendem Protoplasma dargestellt.

Fig. 15. Konjugierter Kern, *a* Substanz des Spermakerns noch für sich zu erkennen, *b* Substanz beider Kerne verschmolzen. δ^2.

Fig. 16—34. Kerne aus Stadium δ^3.

Fig. 16. Spermakern in Ordenssternfigur, Eikern im Anfang der faserigen Umbildung.

Fig. 17—20. Eikern in Fächerform, welche in den Figuren 18 und 20 die Umbildung zur Spindel erkennen läßt. Fig. 18 3strahliger Spermakern.

Fig. 21 und 22. Eikern in Pseudotetrasterform mit zentraler Chromatinanhäufung.

Fig. 23—25. Chromatin des Eikerns in Umlagerung zur Rosettenform.

Fig. 26—30. 4strahlige Rosettenform des Eikerns. Spermakerne 3strahlig, beginnen in Fig. 28 und 29 mit dem Eikern in Verbindung zu treten. Fig. 30 stärker vergrößert. $\frac{1}{18}$ Oc. 3.

Fig. 31. Rosettenförmiger Eikern, bei dem ein Pol schwach entwickelt ist. Spermakern 3strahlig.

Fig. 32. Rosettenförmiger Eikern, bei dem eine Ecke mehr als normal entwickelt ist; vierstrahliger Spermakern, bei dem die Chromatinumlagerung zur Rosettenform beginnt.

Fig. 33. Rosettenförmiger Eikern mit 6 Ecken.

Fig. 34. Kern aus Konjugation hervorgegangen, undeutlich faserig differenziert.

Fig. 1.

b

Fig. 15.

Fig. 16.

Fig. 17.

Fig. 18.

Fig. 19.

Fig. 26.

Fig. 27.

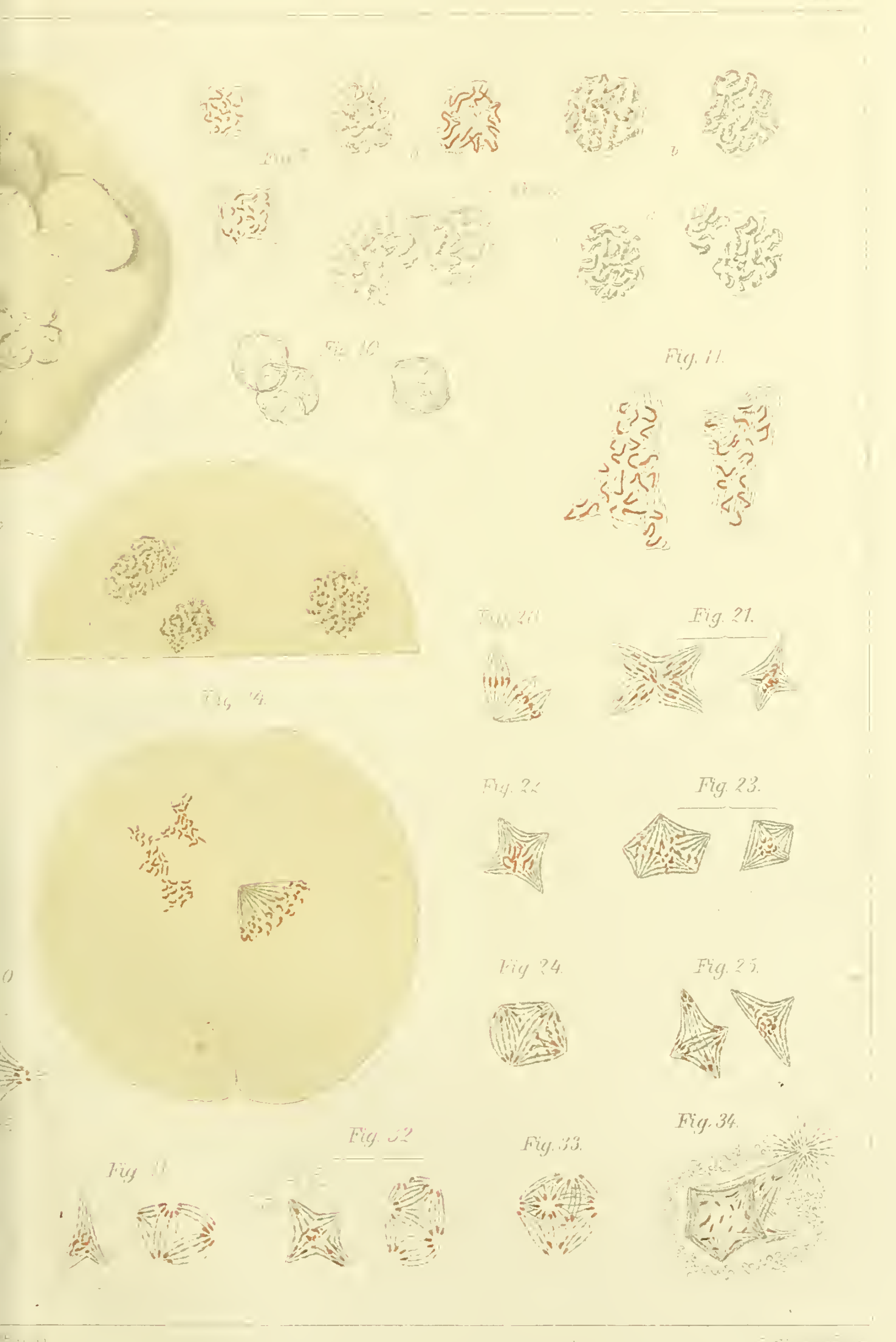


Fig. 11.
Fig. 21.
Fig. 23.
Fig. 24.
Fig. 34.
Fig. 33.

Tafel VI.

Fig. 1.
Fig. 2. Eikern und Spermakern in Rekonstruktion. Stad. δ^3.

Fig. 3. Die rekonstruierten beiden Kerne in chromatischer Metamorphose. Stadium δ^3.

Fig. 4. Eikern in Rosettenform und Spermakern in Ordenssternform treten zu einander in Beziehung. δ^3.

Fig. 5. 8 Gruppen von Kernbläschen hervorgegangen aus einem rosettenförmigen konjugierten Kern. δ^3.

Fig. 6. 6 strahliger rosettenförmiger Furchungskern. δ^3.

Fig. 7 u. 8. Rekonstruierter Furchungskern in chromatischer Umbildung. δ^3.

Fig. 9—11. Kernteilungen, in Figur 9 auch Protoplasmateilung. δ^4.

Fig. 12—27. Serie ε.

Fig. 12. Spermakern und Eikern sind noch nicht vereinigt. ε^1

Fig. 13 und 14. Spermakern und Eikern in mehr oder minder inniger Konjugation. ε^1.

Fig. 15. Konjugierte Kerne, bei denen sich die Substanzen von Ei- und Spermakern nicht mehr unterscheiden lassen. ε^2.

Fig. 16. Eikern und Spermakern fast ganz zu einem 7 poligen Kern vereinigt und faserig differenziert. Chromatin in Umlagerung zur Rosettenform begriffen. 2 schwächere Strahlungen in einiger Entfernung vom Kern, eine stärkere an einem Kernpol. ε^3.

Fig. 17. Eikern und Spermakern getrennt in die Rosettenform übergeführt. ε^3.

Fig. 18. Konjugierter Kern in Rosettenform, eine Strahlung auf der einen, eine Doppelstrahlung auf der anderen Seite. ε^3.

Fig. 19. Achtstrahliger Rosettenkern. ε^3.

Fig. 20. Stück eines konjugierten Kerns, bei dem das Chromatin noch nicht in die Rosettenform übergegangen ist.

Fig. 21. Achtstrahliger Rosettenkern, bei dem je 2 Ecken fast zur Vereinigung genähert sind.

Fig. 22. Fünfstrahliger Rosettenkern mit Strahlung an den Polen. ε^3.

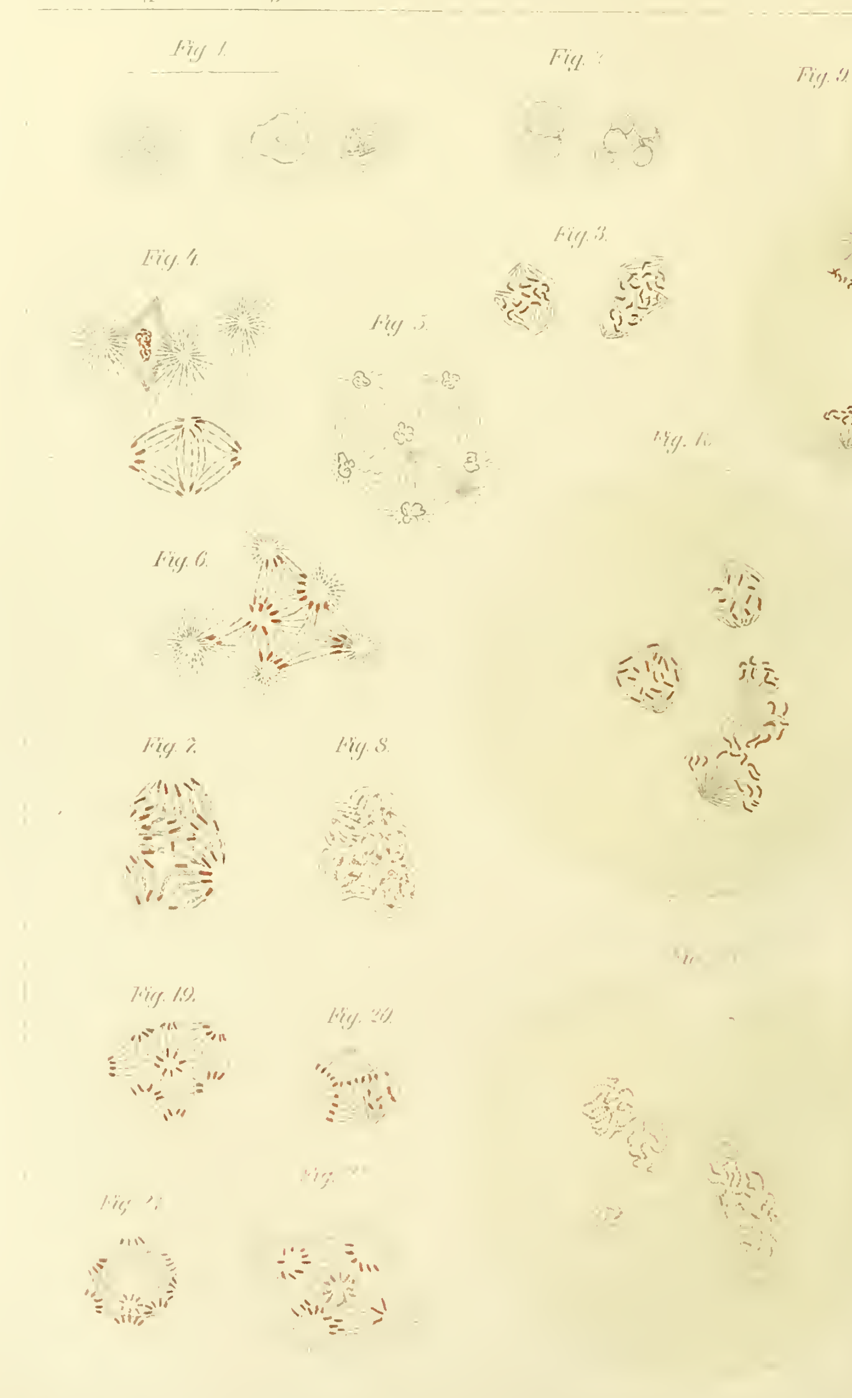
Fig. 23. Ei in Teilung mit 5 ungleich großen, schwach chromatischen Kernen. ε^4.

Fig. 24. Ei fast zweigeteilt, 2 faserig differenzierte Kerne, davon einer in Fächerform. ε^4.

Fig. 25. Sechs Haufen von Kernbläschen aus Teilung eines rosettenförmigen Kerns entstanden. ε^3.

Fig. 26. Beginnende Verschmelzung der Kernbläschen, welche aus der Teilung eines rosettenförmigen Kerns entstanden sind. ε^3.

Fig. 27. Acht mehr oder minder ansehnliche Haufen von Kernbläschen aus der Teilung eines Rosettenkerns hervorgegangen. ε^3.


Fig. 1.
Fig. 2.
Fig. 9.
Fig. 3.
Fig. 4.
Fig. 5.
Fig. 6.
Fig. 7.
Fig. 8.
Fig. 19.
Fig. 20.

Taf. VI.

Fig. 12.

Fig. 13.

a

b

Fig. 14.

Fig. 15.

Fig. 11.

Fig. 16.

Fig. 17.

Fig. 18.

Fig. 23.

Fig. 24.

Fig. 21.

Fig. 26.

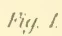


Fig. 1.

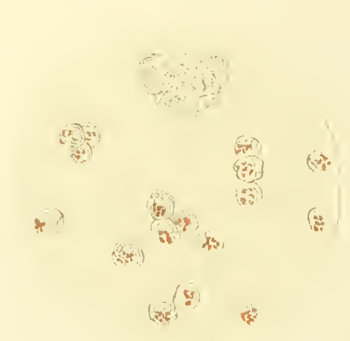


Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.





Fig. 5.

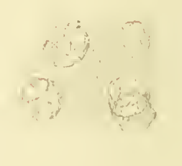


Fig. 6.

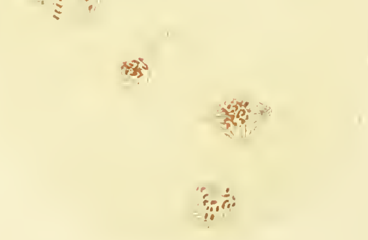


Fig. 7.

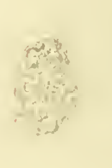


Fig. 8.



Fig. 9.



Fig. 10.



Fig. 11.



Gustav Fi…

Tafel VII.

Fig. 1. Ei vor der Bildung des 2. Richtungskörpers polysperm befruchtet und dann mit Chloral behandelt. Stad. δ^4.

Fig. 2. Ei auf dem Stadium der Richtungsspindel vor Bildung des ersten Richtungskörpers polysperm befruchtet und dann chloralisiert. δ^4.

Fig. 3. Ein wahrscheinlich mechanisch verletztes und infolge dessen polysperm befruchtetes, chloralisiertes Ei. ε^7.

Fig. 4 und 5. Furchungskern nach der Teilung des Rosettenkerns in Rekonstruktion begriffen. ε^3.

Fig. 6 und 7. Rekonstruierter, aber noch höckerig eingeschnürter Furchungskern. ε^3.

Fig. 8—11. Verschiedene Stadien der chromatischen Metamorphose des rekonstruierten Furchungskerns. ε^3.

Frommann'sche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Viertes Kapitel.

Beurteilung der Beobachtungen.

Als wir vor einigen Jahren die experimentellen Untersuchungen über die Teilung und Befruchtung des Eies begannen, wurden wir von dem Gesichtspunkt geleitet, daß hier Prozesse vorliegen, welche mit großer Gesetzmäßigkeit ablaufen, trotzdem aber nicht so sehr befestigt sind, daß sie nicht durch äußere Einflüsse abgeändert werden könnten. So war denn zu hoffen, daß man in der Erkenntnis dieser Prozesse weiter gelangen würde, wenn man durch Einführung bestimmter äußerer Faktoren ihren Verlauf modifizierte und die dadurch gesetzten Veränderungen einem genauen Studium unterwürfe. Es war zu hoffen, daß man von der Qualität der abändernden Eingriffe einen Rückschluß würde machen können auf die Kräfte, welche die Gesetzmäßigkeit der normalen Vorgänge gewährleisten.

Der damit eingeschlagene Weg ist langwierig und wird erst allmählich zu festen Resultaten führen, vielfach wird er zunächst nur die Zahl der unverstandenen Erscheinungen vermehren und Beobachtungen fördern, welche jetzt noch wie Curiosa erscheinen und von denen man auch nicht absehen kann, ob sie überhaupt einmal Bedeutung gewinnen werden. Daß daneben aber schon jetzt viele wichtige und sichere Ergebnisse gefördert werden können, welche irrtümliche Ansichten beseitigen und durch neue, besser begründete verdrängen werden, glauben wir durch unsere früheren Untersuchungen gezeigt zu haben und hoffen es auch durch die hier neu mitgeteilten Beobachtungen zu beweisen.

Wir haben lange geschwankt, ob es zweckmäßig sei, bei der Ausarbeitung des allgemeinen Teils uns auf eine übersichtliche Zusammenstellung der wichtigsten von uns gewonnenen Beobachtungen zu beschränken, oder ob wir den Versuch machen sollten, zugleich auch die Frage nach den bei der Befruchtung und Teilung wirksamen Kräften zu erörtern. Obwohl wir nun uns vollkommen bewußt sind, wie wenig Angriffspunkte der kausalen Beurteilung gegeben sind, und unsere Untersuchung nur als eine erste Rekognoszierung auf einem weiten und dunklen Gebiet betrachten, haben wir uns gleichwohl zu dem an zweiter Stelle genannten Verfahren entschlossen, hauptsächlich wegen des heuristischen Wertes, welchen dasselbe besitzt. Für den weiteren Fortgang der begonnenen experimentellen Studien ist schon viel gewonnen, wenn es gelingt, die Fragestellung bestimmter zu fassen und neue Gesichtspunkte zur Anstellung weiterer Versuche zu entwickeln. Dazu wird man aber erst gelangen, wenn man anfängt den Vorrat an Beobachtungen und Experimenten, so klein derselbe auch sein mag, auf seine Beweiskraft zu prüfen und kritisch zu sichten. Wir selbst sind auf eine ganze Reihe wichtiger experimentell zu lösender Frage erst geführt worden, als wir untersuchten, inwieweit die angestellten Experimente geeignet sind, um eine klarere Erkennung der dem Protoplasma und dem Kern zukommenden Eigenschaften anzubahnen.

Die Experimente, welche wir im speziellen Teil mitgeteilt haben, sind angestellt worden, um durch chemische, thermische und mechanische Eingriffe den normalen Verlauf von 3 Prozessen abzuändern: 1. den Verlauf der äußeren Befruchtungserscheinungen oder sagen wir kurz der Besamung, 2. den Verlauf der inneren Befruchtungserscheinungen und 3. den Verlauf der Teilung. Der allgemeine Teil gliedert sich demgemäß ebenfalls in 3 Abschnitte, zu dem dann noch ein vierter hinzukommt, welcher die Wirkungsweise der angewandten Agentien im allgemeinen behandelt. Um nämlich die von uns künstlich erzeugten Modifikationen der Befruchtung und Teilung richtig beurteilen zu können, muß man sich zuvor darüber Klarheit verschaffen, wie überhaupt die chemischen, thermischen und mechanischen Eingriffe auf Protoplasma und Kern wirken.

1. Abschnitt.

Über die Einwirkungsweise der angewandten Agentien.

Um die Einwirkungsweise von Agentien auf die Geschlechtsprodukte zu verstehen, haben wir dieselben in verschiedener Stärke angewandt; wir haben bei chemischen Körpern die Konzentration der Lösung variiert und bei Wärme größere oder geringere Temperatur benutzt. Denn es ist bekannt, daß der Einfluß von Lösungen bei zunehmender Konzentration in das Gegenteil von dem, was man bei schwachen Lösungen beobachtet hat, umschlagen kann.

Ferner kommt die Zeitdauer der Einwirkung in Betracht. Starke Lösungen veranlassen in kurzer Zeit häufig Erscheinungen, welche von schwachen Lösungen nach längerer Dauer ebenfalls herbeigeführt werden. Jede durch äußere Einflüsse verursachte Veränderung ist somit ein Produkt von der Energie und von der Dauer der Einwirkung. Um nun eine kurze Ausdrucksweise zu gewinnen, welche zugleich auch auf die mechanischen und thermischen Einflüsse paßt, wollen wir im folgenden von schwachen, mittelstarken und starken Agentien reden, ohne immer zu analysieren, wieviel von der Einwirkung auf Rechnung der Zeitdauer oder der Energie gesetzt werden muß.

Die Bezeichnungen „schwache und starke Agentien" bedürfen noch der Erläuterung, da wir Mittel, welche direkt untereinander gar nicht vergleichbar sind, auf sehr verschiedenartige Prozesse haben einwirken lassen. Es hat sich für uns die Notwendigkeit herausgestellt, eine bestimmte Einwirkungsweise als Maßstab überall zu Grunde zu legen; als solche wird sich am besten diejenige Reaktion empfehlen, in welcher zwischen allen angewandten Mitteln die größtmögliche Übereinstimmung herrscht, und so wird unser Augenmerk auf die Polyspermie gelenkt. Alle benutzten chemischen Körper von einer bestimmten Konzentration und Einwirkungsdauer an, sowie die Erwärmung und die mechanische Erschütterung stimmen darin überein, daß sie, auf unbefruchtete Eier angewandt, dieselben der Fähigkeit berauben, dem Eindringen von mehr als einem Spermatozoon Widerstand zu leisten. Wir wollen nun als schwache Agentien solche bezeichnen, bei denen die ersten Merkmale von Vielbefruchtung auftreten, bei denen ein großer Teil der Eier noch normal befruchtet ist, wärend in andere

schon 2, hier und da vielleicht auch 3 Spermatozoen eingedrungen sind.

Von starken Agentien wollen wir sprechen, wenn ihre Itensität so sehr gesteigert ist, daß fast bei allen Eiern Überfruchtung durch 4, 5 und mehr Spermatozoen herbeigeführt wird. Man kann dann die angewandte Bezeichnungsweise durch folgende Tabelle[1]) erläutern.

1. Schwache Agentien, welche hie und da Doppel- und Dreifachbefruchtung verursachen, sind:

1.	Nikotin	10 Min. 1 Trpf. Extr.: 1000 Wasser	od. 5 Min. 1 : 200
2.	Strychnin	20 Min. 0.005 %	od. 10 Min. 0.01 %
3.	Morphium	2 Std. 0.1—0.2 %	od. 1/4 Std. 0.6 %
4.	Cocain	5 Mn. 0,025 %	?
5.	Chinin	5 Mn. 0.005 %	od. 5 Mn. 0.05 %
6.	Chloral	12 „ 0.2 %	
7.	Wärme	10 „ 31° C.	

2. Starke Agentien, bei deren Anwendung fast überall 4, 5 und mehr Spermatozoen eindringen, sind:

1.	Nikotin	20 Mn.	1 : 1000	oder	5 Mn.	1 : 100
2.	Strychnin	20 „	0.01 %	„	5 „	0.1 %
3.	Morphium	5 Std.	0.4 %	„	2 1/2 Std.	0.6 %
4.	Cocain	5 Mn.	0.1 %			
5.	Chinin	1 Std.	0.005 %	„	10 Mn.	0.05 %
6.	Chloral	3 „	0.2 %	„	5 „	0.5 %
7.	Wärme	45 Mn.	31° C.	„	5 „	35° C.

Während die angewandten Mittel darin, daß sie Polyspermie veranlassen, übereinstimmen, sind sie im übrigen von einander sehr verschieden und zwar können wir im ganzen 3 Gruppen bilden: auf der einen Seite stehen Chinin und Chloral, wahrscheinlich auch das nicht genügend untersuchte Cocain, auf der anderen Seite Nikotin und Strychnin, eine mittlere Stellung nimmt das Morphium ein. Der Einwirkungsweise von Chinin und Chloral nähert sich übermäßige Erwärmung.

Die Erscheinungen, bei welchen die Unterschiede zu Tage

1) Zu dieser Tabelle bemerken wir, daß wir selbst am meisten ihre Unzulänglichkeit beklagen. Es müßten, da die frischen Eier selbst je nach dem Muttertier sehr verschiedenartig sind, die Versuche zahlreicher und noch methodischer angestellt werden. Immerhin ist die Tabelle geeignet zu erläutern, was angestrebt werden müßte.

treten, sind folgende: 1. die Bewegungen der Spermatozoen, 2. die Bildung der Befruchtungshügel, 3. die Teilung der Eier, 4. die karyokinetischen Vorgänge, 5. die Protoplasmastrahlung.

1. Die Bewegungen der Spermatozoen werden durch geringe Dosen von Chinin und Chloral vollkommen zum Stillstand gebracht. Da die Spermatozoen bei Zusatz von frischem Seewasser zu neuem Leben erwachen, so werden sie nicht getötet, sondern erfahren nur eine Lähmung ihrer Kontraktilität. Die Befruchtungsfähigkeit des Samens wird nicht verändert; wenn bei frischem Wasserzusatz die ersten schwachen Bewegungen auftreten, beginnen auch ganz normale Befruchtungen der Eizellen. Mit Erwärmung haben wir nicht experimentiert, glauben aber mit ziemlicher Sicherheit voraussagen zu können, daß sie ähnlich wirken wird.

Morphium scheint auf den männlichen Samen gar keinen Einfluß auszuüben, ebensowenig mittelstarke Lösungen von Strychnin und Nikotin; denn in Lösungen, welche bei kurzer Einwirkung schon befähigt sind Polyspermie zu erzeugen, schwimmen die Spermatozoen noch nach 2 Stunden lebhaft beweglich herum. Wir haben zwar auch mit Nikotin das Sperma seiner Bewegungsfähigkeit beraubt, aber es geschah das erst nach 1 stündiger Einwirkung einer sehr starken Lösung, in welcher die Eier sofort zu Grunde gehen würden, und bei der es daher recht wohl möglich wäre, daß die gesamte Lebensenergie der Samenfäden, vielleicht sogar ihre chemische Konstitution, Veränderungen erfahren hatte. Jedenfalls muß man vorsichtig sein, hier von einem unmittelbaren Einfluß auf die Kontraktionsfähigkeit der Elemente zu reden.

2. Die Bildung der Befruchtungshügel, jener Erhebungen des Eiprotoplasma, welche die Eintrittsstelle der Spermatozoen markieren, leidet bei Chinin- und Chloralbehandlung und zwar scheinen sie durch Chinin noch mehr als durch Chloral verkleinert zu werden. Schwache Erwärmung bewirkt anfangs eine Vergrößerung der Befruchtungshügel; bei längerer Dauer und höheren Graden dagegen ähnelt sie der Chininwirkung; die Bildung der Befruchtungshügel kann hier sogar ganz unterbleiben, wenn z. B. die Erwärmung auf 32° Celsius 1 Stunde lang fortgesetzt wird, oder wenn hohe Temperaturen von 35—40° nur kurz angewandt werden.

Morphium verhält sich indifferent, höchst auffällig dagegen Strychnin und Nikotin. Selbst bei hochgradiger Polyspermie sind die Hügel äußerst deutlich, und nicht unwesentlich größer als bei normaler Befruchtung, während man doch eher hätte er-

warten sollen, daß das Eiplasma weniger zur Bildung geeignet ist, wenn es an vielen Orten gleichzeitig in Anspruch genommen wird. Als einen recht in die Augen springenden Fall heben wir hervor, daß bei Behandlung der Eier mit einer 0.25 % Lösung zahlreiche große Befruchtungshügel sich bilden, obwohl dann in der Abhebung der Eimembran schon eine Verlangsamung eintritt.

3. Über den Einfluß der Agentien auf die Eiteilung haben wir ein sehr umfangreiches Material gesammelt; dasselbe bringt den oben hervorgehobenen Gegensatz zwischen den beiden Gruppen recht deutlich zum Ausdruck. In einer 0.6 % Morphiumlösung teilen sich die Eier fast ungestört, in einer 0.1 % Lösung entwickeln sie sich sogar einen ganzen Tag normal, auch wenn das Wasser nicht gewechselt wird. Strychnin und Nikotin sind fast unschädlich auch in Lösungen, welche schon hochgradige Polyspermie erzeugen. Dagegen lähmen Chinin, Chloral und Wärme die Teilungsfähigkeit des Eies in hohem Grade. Der Teilungsprozeß wird um $^1/_2$ Stunde hinausgeschoben, wenn Eier, welche auf dem Hantelstadium stehen, auch nur 10 Minuten lang in einer 0.05 % Chininlösung belassen werden; eine Dauer von 20 Minuten hat eine weitere Verzögerung von 15 Minuten zur Folge; bei einer halbstündigen Dauer wird die Gesamtverzögerung sogar auf $1^1/_2$ Stunden erhöht. Vielfach erhält das Ei überhaupt seine vollkommene Teilungsfähigkeit nicht wieder, so daß Knospenfurchungen entstehen. Vollkommener Stillstand der Teilung tritt sicher bei starken Lösungen ein.

Noch intensiver wirken Chloral und Wärme; namentlich ist hier die Nachwirkung so außerordentlich auffallend, bei Wärme wiederum mehr als bei Chloral. Es scheint, als ob Eier, welche nur 10 Minuten lang in Wasser von 32° C. verharrt haben, nie ihre volle Teilungsfähigkeit wieder gewinnen.

4. Die Veränderungen, welche Chinin und Chloral bei der Eiteilung hervorrufen, beschränken sich nicht auf das Protoplasma, sondern ziehen auch den Kern in Mitleidenschaft. Wenn dieser sich schon zur Spindel gestreckt hat und unter den Einfluß der genannten Reagentien gerät, wird er nicht nur in seiner Weiterentwicklung gehemmt, sondern erleidet sogar eine regressive Metamorphose und wird wieder zu einem Bläschen. Die übrigen Stoffe sind dagegen indifferent.

5. Sehr wichtig ist endlich für uns das Verhalten der angewandten Reagentien gegenüber den Strahlungserscheinungen, welche sowohl während der Befruchtung als auch während der

Teilungen auftreten. Dieselben werden bei Chloral- und Chininbehandlung, ebenso durch hochgradige Erwärmung gänzlich unterdrückt; entweder kommen sie gar nicht zur Ausbildung oder sie verschwinden wieder, wenn sie schon vor der Behandlung vorhanden waren. Erst spät, wenn die Chloral- und Chininlösung gut ausgewaschen und die Einwirkungen vorübergegangen sind, tritt Strahlung von neuem auf, sie kann bei den mit Chinin behandelten Eiern sogar dann stärker sein als normal, erreicht dagegen bei Chloralanwendung und Erwärmung nie ihre volle Intensität wieder. In der Nachwirkung besteht somit auch hier wieder ein auffälliger Unterschied zwischen Chinin einerseits und Chloral und Wärme andererseits.

Während Morphium sich indifferent verhält oder nur geringfügig der Strahlung entgegenwirkt, haben Nikotin und Strychnin den entgegengesetzten Effekt. Namentlich durch Strychnin wird die Strahlung in hohem Maße gesteigert. Selbst wenn eine 0.25 % Lösung 10 Minuten lang gewirkt hatte, war die Strahlung der Spermakerne sehr deutlich; eine Abschwächung, aber keineswegs vollkommene Unterdrückung, trat erst bei einer Anwendung während 25 Minuten ein.

Wenn wir die soeben zusammengestellten Verhältnisse nun noch einmal überblicken, um einen Rückschluß auf die Einwirkungsweise der Reagentien zu machen, so scheint uns am meisten Klarheit zu herrschen soweit als es sich um die Kontraktilitätserscheinungen der Geschlechtsprodukte handelt. Diese werden unzweifelhaft durch Chinin und Chloral herabgesetzt, wie man es am deutlichsten an der Lähmung der Spermatozoen erkennen kann. Aber auch das Unterbleiben der Teilung und die retrograde Verwandlung des Kerns sind wohl Zeichen, daß die Befähigung zu aktiver Bewegung vorübergehend aufgehoben wird. Umgekehrt scheinen Nikotin und Strychnin die Kontraktilität in geringem Maße zu erhöhen. Wir stellen die Ansicht nur als eine Vermutung auf und werden dabei durch die Wahrnehmung bestimmt, daß die genannten Reagentien eine verstärkte Bildung der Befruchtungshügel veranlassen, in denen sich doch eine lokale Kontraktion des Plasma's ausspricht. Um sichere Ergebnisse zu gewinnen, müßte man methodischer, als wir es gethan haben, untersuchen, ob die beiden Substanzen in geeigneten Lösungen eine Beschleunigung der Eiteilung oder der Spermatozoenbewegung zur Folge haben.

Wenn die Ansicht richtig ist, daß Chinin und Chloral lähmend, Nikotin und Strychnin in geringem Maße erregend auf die Kontraktilität des Eies wirken, so ist damit ein neuer Gesichtspunkt gewonnen für die

Deutung der Strahlungserscheinungen im Innern des Eies.

Da dieselben aufgehoben werden durch lähmende Reagentien, eine Steigerung erfahren durch erregende Mittel, so hätte man Ursache die Strahlungsfigur als Ausdruck einer im Protoplasma vor sich gehenden Kontraktion aufzufassen.

Nach unserer Ansicht sind der Spermakern und die Enden des Furchungskerns Reizzentren, welche auf das Protoplasma erregend einwirken. Es ist naturgemäß, daß die homogenen Bestandteile des Plasma's, welche Sitz der Kontraktilität sind, nach dem Punkte der Erregung hinströmen und hier eine Anhäufung erzeugen; es ist aber ferner naturgemäß, daß die Bewegung in radialen Bahnen fortschreitet und dadurch auf die passiven Teile, die Körnchen, einen richtenden Einfluß ausüben muß. Der richtende Einfluß wird aber nur so lange zum Ausdruck kommen, als die ihn veranlassende Bewegung eine energische, rasch fortschreitende ist. Wird die Bewegung durch lähmende Mittel verlangsamt, so wird die Körnchenanordnung unterbleiben und nur die Anhäufung homogenen Plasma's im Umkreis des Kerns zu stande kommen. Daher sehen wir bei allen Lähmungen des Protoplasmas, namentlich den durch Wärme veranlaßten, ein Stadium eintreten, wo die Strahlungsfigur durch eine Anhäufung homogenen Plasma's ersetzt wird, ehe sie gar nicht mehr zur Ausbildung gelangt.

Namentlich die letztgenannte Erscheinung scheint uns gar nicht mit der Deutung vereinbar zu sein, welche von früheren Forschern, darunter auch solchen, die sich mit dem Gegenstand intensiver beschäftigt haben, versucht worden ist.

Ausgehend von dem Umstand, daß eine ähnliche Anordnung erreicht wird, wenn die Spitze eines Magneten in feinste Eisenteilchen getaucht wird, haben dieselben die reihenförmige Stellung der Körnchen ebenfalls aus einer Anziehung erklärt, welche der Spermakern oder in anderen Fällen die beiden Enden des Furchungskerns auf die Protoplasmateilchen ausüben. Welcher Art diese Anziehung wohl sein könnte, ob magnetoelektrischer oder anderer Natur, darüber hat man sich keine Vorstellungen gebildet.

Für die ursächliche Erklärung der Strahlungsfiguren scheinen uns von besonderer Bedeutung auch die Fälle zu sein, in denen sich dieselben in einiger Entfernung vom Kern im Protoplasma des Eies bilden. Am häufigsten haben wir sie gesehen, wenn die normale Befruchtung eingeleitet, in ihrem Fortgang aber durch Chloral gehemmt worden war. Wenn sich dann die unregelmäßigen Kernfiguren ausbilden, werden häufig auch unregelmäßige Strahlungen im Plasma sichtbar. (Taf. III, Fig. 19, 23, 24; Taf. IV, Fig. 2, 5a; Taf. VI Fig. 18.)

Weitere Bedingungen für die Ausbildung von reinen Plasmastrahlungen werden geliefert, wenn zahlreiche Spermakerne in ein Ei eingedrungen sind. Meist treten sie dann erst auf, wenn die Vorbereitungen zur Teilung beginnen, aber auch vorher haben wir sie gesehen in den Fällen, wo wir durch Schütteln abgelöste Eistücke befruchtet hatten. (Taf. I, Fig. 9 und 16; Taf. II, Fig. 5 und 15.)

Außer uns hat nur noch Carnoy [1]) Plasmastrahlungen beobachtet und zwar an Eiern von Ascaris megalocephala zur Zeit der Richtungskörperbildung; er unterscheidet je nach ihrer Lagerung zu dem Kerne Strahlungen erster, zweiter und dritter Ordnung. Während nun Carnoy die betreffenden Strahlenfiguren für normale Bildungen hält, sind wir vielmehr der Ansicht, daß es sich um pathologische Verhältnisse handelt. In den von uns beobachteten Fällen ist es unzweifelhaft, daß abnorme Zustände vorlagen, da wir sie künstlich herbeigeführt hatten; wir tragen aber kein Bedenken, die Deutung auf die Beobachtungen Carnoy's zu verallgemeinern, und wollen unsere abweichende Auffassung mit kurzen Worten begründen.

Wer die von Carnoy gegebenen Abbildungen betrachtet, dem wird sofort die ganz außerordentliche Mannigfaltigkeit derselben auffallen. Die Figuren von den Protoplasmastrahlungen und den karyokinetischen Veränderungen des Kerns weichen sowohl von dem ab, was wir sonst von den so äußerst regelmäßigen Vorgängen bei der Richtungskörperbildung wissen, als auch lassen sie, untereinander verglichen, die nötige Gesetzmäßigkeit vermissen; dagegen liefern sie Seitenstücke zu den von uns künstlich hervorgerufenen Mißbildungen der Kernfiguren. So sehen wir die Richtungsspindel mit 4 und mehr Polen ver-

1) Carnoy, La cytodierèse de l'oeuf. Louvain 1886.

sehen, die Pole ab und zu deutlich, dann wieder undeutlich ausgeprägt.

Wir haben uns mit solcher Bestimmtheit über den pathologischen Charakter der Eier, welche CARNOY zu seinen Abbildungen das Material geliefert haben, ausgesprochen, weil wir uns nicht allein auf theoretische Erwägungen, sondern zugleich auch auf Beobachtungen stützen können. Im zoologischen Institut zu München hat Herr Dr. BOVERI mit einwurfsfreien Methoden die Bildung der Richtungskörper und die Befruchtung bei Ascaris megalocephala neu untersucht und dabei principielle Übereinstimmung mit den bei anderen Tieren hierüber gemachten Beobachtungen gefunden; er ist zum Resultat gekommen, daß das Untersuchungsobjekt mit großer Vorsicht behandelt werden muß, weil die Eier sich bei ungünstigem Verfahren leicht zu krankhaften Formen fortentwickeln, ehe sie durch die Reagentien fixiert werden.

Indem wir von der Ansicht ausgehen, daß auch die Strahlungen, welche sich in einiger Entfernung vom Kern befinden, durch Kontraktionen des Protoplasma's veranlaßt sind, liegt es nahe nach einem im Zentrum vorhandenen Körper zu suchen, welcher als Reizerreger hätte funktionieren können. Man könnte daran denken, daß Teile des Kerns sich bei der pathologischen Umbildung abgelöst und die Strahlungen veranlaßt hätten. Wir haben daher mit Aufmerksamkeit nach solchen Kernteilen gesucht, aber keine aufgefunden, woraus wir indessen einen Beweis für ihr Fehlen nicht ziehen wollen; man muß nämlich die Schwierigkeit, welche dem Nachweis achromatischer Kernteile im Protoplasma entgegensteht, berücksichtigen.

Nach einer Ansicht, welcher der eine von uns (R. HERTWIG) zuneigt, wäre es freilich nicht einmal notwendig, die Existenz besonderer als Reizerreger functionierender Körper im Zentrum der Strahlungen anzunehmen; es wäre denkbar, daß der Reiz auch hier von den Kernenden ausgeht, während die Kontraktion in einiger Entfernung von ihnen sich vollzieht. Einerseits könnte das Protoplasma im Umkreis des Kerns die Fähigkeit der Kontraktion für einige Zeit verloren, die Fähigkeit der Reizleitung aber bewahrt haben, andererseits aber wäre es möglich, daß die von verschiedenen Punkten ausgehenden unregelmäßigen Kontraktionswellen sich zu neuen Kontraktionen kombinieren. Wir verzichten zunächst darauf, diese Gesichtspunkte im einzelnen weiter zu verfolgen.

Erhöhte Erregbarkeit, Lähmung und Polyspermie sind nun nicht die einzigen Veränderungen, welche durch die äußeren Eingriffe in den Eiern veranlaßt werden; nebenher gehen jedenfalls auch Veränderungen in der chemischen Beschaffenheit der das Ei bildenden Substanzen selbst zu einer Zeit, wo noch nicht Tod eintritt. So haben wir zweimal eine merkwürdige Veränderung im Farbstoff der Eier beobachtet. Wenn Eier in Chinin- oder Morphiumlösungen sich entwickeln, verschwinden die braunen Pigmentkörnchen aus dem Protoplasma und der Raum zwischen Ei und Dotterhaut nimmt ein lichtgelbes Kolorit an. Offenbar wurde das Pigment gelöst und nach außen befördert. Eier, welche mehrere Stunden in Nikotinlösung gelegen haben, werden körnig und trübe. Vielfach treten Trübungen erst im Laufe der Entwicklung einige Zeit .nach Einwirkung des Reagens auf. So bilden sich z. B. im Dotter nach Chininbehandlung größere und kleinere, wie Fett glänzende Tropfen. (Taf. II, Fig. 21, 22, 24.)

Wichtiger noch als diese sichtbaren Veränderungen sind jedenfalls die für unser Auge nicht erkennbaren Störungen in der feineren Beschaffenheit der Eizellen. Ganz abgesehen von dem, was wir oben über die Kontraktilität gesagt haben, so werden die Eier jedenfalls durch den Einfluß äußerer Eingriffe vielfach eine gleichförmige Herabsetzung der Lebensthätigkeit erfahren. Es wird nicht überall leicht sein, aber man wird prinzipiell wohl unterscheiden müssen, ob eine bestimmte Funktion der Eizelle unmittelbar durch die Einwirkung eines Reagens verändert wird, oder mittelbar, weil sie einen Teil des in seiner Gesamtheit veränderten Lebens darstellt.

Zweiter Abschnitt.

Veränderungen der normalen Besamung.

Will man die Besamung oder die äußeren Befruchtungserscheinungen abändern, so könnte man von vornherein drei Wege einschlagen: 1. vor der Besamung beiderlei Geschlechtsprodukte in abnormer Weise beeinflussen, 2. die Beeinflussung auf die Spermatozoen oder 3. auf die Eier beschränken. Von diesen drei Möglichkeiten ist nur die zuletztgenannte verwertbar gewesen; denn die Samenfäden können, soweit unsere Erfahrungen reichen, nicht verändert werden,

ohne die Befähigung zur Befruchtung zu verlieren. Entweder haben sie die Beweglichkeit, welche nötig ist, um in das Ei einzudringen, eingebüßt, oder wenn das nicht der Fall ist, befruchten sie nach unseren Erfahrungen in normaler Weise.

Wie wir bei einer früheren Gelegenheit auseinandergesetzt haben, ist für die normale Besamung charakteristisch, daß nur Ein Spermatozoon in das Ei dringt und zwar ein derselben Art angehöriges. Abnorme Befruchtung tritt ein, wenn Spermatozoen einer anderen Art die Befruchtung bewirken, (Bastardierung) oder wenn bei Wahrung der Art-Übereinstimmung viele Spermatozoen in das Ei hineingelangen (Polyspermie). Es fragt sich nun, welcher Art sind die Einrichtungen, welche abnorme Befruchtungen verhindern.

Bei den Spermatozoen haben wir keine Eigenschaften entdeckt, welche das Zustandekommen einer normalen Befruchtung auch nur begünstigten. Dieselben scheinen die Tendenz zu besitzen, in jedwedes Ei und zwar in jeder Menge einzudringen. Wir haben zwar nur wenige Versuche gemacht, sind aber der Überzeugung, daß eine methodische Untersuchung zu gleichen Resultaten führen wird, daß nämlich die Spermatozoen dieselbe Tendenz besitzen, ein gleichartiges Ei wie das Ei einer anderen Art zu befruchten.

Haben wir somit die Frage auf das Ei eingeschränkt, so wäre zunächst zu entscheiden, ob die Bedingungen für Bastardierung die nämlichen wie für Polyspermie sind.

Wir müssen zu unserem Bedauern eingestehen, daß wir noch nicht in der Lage sind, hierüber ein entscheidendes Urteil zu fällen; als wir über Bastardierung arbeiteten, hatten wir nicht Zeit und auch nicht die genügende Ausrüstung, um eine methodische Untersuchung vorzunehmen. Bei dem zweiten Meeresaufenthalt dagegen fehlte uns das Material zur Bastardierung.

Immerhin wollen wir das Wenige, was wir ermittelt haben, im Folgenden zusammenstellen.

Wenn man Eier längere Zeit in Wasser liegen läßt, dringen einerseits in dieselben zahlreichere Spermatozoen ein, andererseits gelingt es vielfach, sie in einer früher nicht möglichen Richtung zu bastardieren. Je nach den Arten, welche man gewählt hat, tritt die Bastardierungsmöglichkeit früher oder später als die Überfruchtung ein. Somit wäre denn langer Aufenthalt im Meerwasser ein Mittel, um sowohl Bastardierung, als auch Polyspermie

herbeizuführen. Man darf jedoch aus diesen Beobachtungen keine weitgehenden Schlüsse ziehen. Denn bei langem Liegen leidet die Lebensthätigkeit der Eizelle in allen ihren Einzelfunctionen: auch andere Erscheinungen werden verändert, wie z. B. die Dotterhaut nicht mehr gebildet wird und die Teilung häufig einen veränderten Charakter annimmt.

Von Reagentien haben wir bei dem Aufenthalt in Sorrent nur das Chloroform zu einigen Experimenten benutzt und gefunden, *daß Eier, welche genügend chloroformiert waren, um überfruchtet zu werden, keine gesteigerte Tendenz zur Bastardierung zeigten.* Wir hätten das Experiment, welches uns damals außerordentlich überraschte, später gern wiederholt und auch andere chemische Körper versucht, haben aber bisher keine Gelegenheit dazu gehabt. Jedenfalls wäre es von großem Interesse, wenn der Nachweis gelänge, *daß die zur Überfruchtung führenden chemischen Körper entweder gar nicht, oder wenigstens nicht alle die Bastardierung ermöglichen.* Vielleicht giebt es auch umgekehrt Mittel, welche die Tendenz zur Bastardierung, aber nicht die Überfruchtung steigern. Dann würde der Nachweis geführt sein, daß die regulatorischen Kräfte gegen Bastardbefruchtung und gegen Polyspermie ganz verschiedener Natur sind, und würden wir damit einen wichtigen Schritt zur Erkenntnis der im Ei schlummernden Kräfte vorwärts gethan haben.

Bis ein erneuter Aufenthalt am Meer uns ermöglicht, die in Sorrent begonnenen Untersuchungen fortzusetzen, wollen wir uns auf die Besprechung der Polyspermie beschränken.

Polyspermie kann durch chemische, thermische und mechanische Eingriffe herbeigeführt werden und zwar wird die Zahl der befruchteten Spermatozoen in demselben Maß vermehrt, als die Intensität und die Einwirkungsdauer der angewandten Agentien gesteigert werden. Nur bei Erwärmung scheint ein Punkt einzutreten, von welchem ab eine Vermehrung der Spermatozoen nicht allein aufhört, sondern die Befruchtung sogar ganz unterbleibt, ein Punkt, der übrigens noch genauer verfolgt zu werden verdient.

Wir wollen nun an der Hand unserer Resultate die Frage erörtern, ob sich nicht aus der Qualität der Agentien und aus der Art, in welcher sie zur Überfruchtung führen, manches zur

Charakteristik der Kräfte, welche das Eindringen von mehr als einem Spermatozoon verhindern, entnehmen läßt.

Zu dem Zwecke wollen wir zwei Hypothesen, welche schon früher aufgestellt worden sind, nacheinander auf ihren erklärenden Wert hin prüfen. Dieselben lauten:

1. Das befruchtende Spermatozoon veranlaßt eine Kontraktion der Eizelle, welche das Eindringen weiterer Samenfäden unmöglich macht.

2. Das befruchtende Spermatozoon regt das Ei zur Ausscheidung einer festen Membran, der Dotterhaut an, welche so undurchdringlich ist, daß kein weiterer Samenfaden sich durch sie durchzubohren vermag.

Nach unseren Experimenten scheint es nun ausgeschlossen zu sein, die Kontraktilität des Eies zur Erklärung heranzuziehen. Denn wir haben gesehen, daß Polyspermie nicht nur durch lähmende Agentien herbeigeführt wird, sondern auch von solchen, welche jedenfalls direkt keine lähmenden Eigenschaften besitzen, sondern vielleicht sogar die Kontraktilität des Eies erhöhen. In unserer Auffassung werden wir noch weiter durch die Wahrnehmung befestigt, daß es in beiden Gruppen Substanzen giebt, welche schon in äußerst dünnen Lösungen wirken (Chinin in der einen, Strychnin in der anderen Gruppe), während andere wiederum eine stärkere Konzentration verlangen.

Ausführlicher haben wir uns mit der zweiten Hypothese zu befassen, welche bekanntlich seiner Zeit von Fol aufgestellt worden ist. Fol lehrt, daß anfänglich das Ei nackt oder nur von einer für Spermatozoen durchgängigen, weichen oder von Porenkanälen (Mikropyle) durchsetzten Membran umhüllt ist, und daß, solange als dieser Zustand besteht, die Samenfäden in das Ei eindringen können. Erst bei der Befruchtung wird als eine Schutzvorrichtung gegen das Eindringen weiterer Spermatozoen die Dotterhaut gebildet. Fol stellt sich den Vorgang so vor, daß das erste Spermatozoon, welches die Oberfläche des reifen, aber unbefruchteten Eies berührt, die sekretorische Thätigkeit des Dotters, deren erstes Produkt die Dotterhaut ist, anregt. Vom Punkt der Berührung aus breitet die Membranbildung sich so rasch über die Eioberfläche aus, daß keine weiteren Spermatozoen Zeit finden, sich in den Dotter einzubohren. Das zweite Produkt der Sekretion ist eine Gallerte, welche zwischen Dotterhaut und Eioberfläche zu liegen

kommt und erstere von letzterer abhebt, indem sie durch Imbibition mit Flüssigkeit quillt.

Bei der Beurteilung der FOL'schen Ansicht müssen zwei Punkte auseinandergehalten und getrennt besprochen werden: 1. Wird die Dotterhaut erst bei der Befruchtung gebildet? und 2. ist sie das einzige oder auch nur überhaupt ein Schutzmittel gegen Überfruchtung?

Während wir früher der Ansicht waren, daß die Dottermembran auch dem unbefruchteten Ei zukommt und bei der Befruchtung nur durch Abhebung von der Eioberfläche deutlicher wird, sind wir jetzt anderer Anschauung geworden mit Rücksicht auf Erfahrungen, welche wir bei Befruchtung zertrümmerter Eier gemacht haben. Wenn man ein Ei durch Schütteln in Stücke zerlegt, so wäre es doch höchst unwahrscheinlich, daß auch die Dotterhaut, ihre Anwesenheit vorausgesetzt, in Stücke zerfiele, und zwar ebenso viele Stücke, als kleine Dotterkugeln vorhanden sind. Wir würden vielmehr erwarten müssen, daß das größte Teilstück die Dotterhaut für sich behielte, die übrigen aber als nackte Protoplasmastücke aus der Umhüllung heraustreten und auch nach der Befruchtung ohne Membran bleiben würden. Thatsächlich trifft aber das Gegenteil ein; auch bei den abgesprengten Teilstücken ohne Kern hebt sich die Dotterhaut ab, wenn Spermatozoen in sie hineingelangen.

Übrigens ist die Befruchtung keineswegs der einzige Reiz, auf welchen das Ei mit Abhebung der Dottermembran antwortet. Wenn Eier in Meerwasser gebracht werden, welches mit Chloroform geschüttelt worden war, hebt sich die Membran so vollständig und ganz in derselben Weise ab, als ob die Befruchtung vollzogen worden wäre. Hier werden die fein verteilten Chloroformteilchen, die mit der Oberfläche des Dotters in Berührung kommen, lokale Reize erzeugen. Bei Anwendung von Chloroform in gasförmigem Zustand tritt die Abhebung nicht ein, wahrscheinlich weil hier eine mehr allmähliche und gleichförmige Einwirkung des Mittels stattfindet. Auch bei Anwendung von Lösungen des Chinin, Nikotin, Strychnin etc. läßt sich das mit Chloroformwasser erhaltene Resultat nicht herbeiführen. Solche mit einer Dotterhaut versehenen Eier können nicht befruchtet werden, was wohl erkennen läßt, daß die Spermatozoen nicht vermögen, die Dotterhaut zu durchbohren.

Was nun den zweiten Teil der FOL'schen Ansicht anlangt,

daß die Dottermembran eine Schutzvorrichtung gegen Polyspermie sei, so scheint derselbe auf den ersten Blick mit den von uns gesammelten Beobachtungen unvereinbar zu sein.

Durch äußere Eingriffe haben wir einen Zustand der Eizelle herbeiführen können, in welchem hochgradige Überfruchtung, in manchen Fällen mit 10—15 Samenfäden, eintritt und die Dottermembran in ganz normaler Weise gebildet und abgehoben wird.

Die Erscheinungen sind bei Anwendung der verschiedensten Agentien dieselben, gleichgültig, ob wir lähmende Substanzen wie Chloral oder erregende wie Nicotin einwirken lassen. Um ein Beispiel anzuführen, so genügt eine Behandlung der Eier mit einer 0.1 $^0/_0$ Strychninlösung während 5 Min. um eine hochgradige Polyspermie zu bewirken, und trotzdem wird die Dottermembran, obwohl etwas verlangsamt, noch gebildet, wenn man die Einwirkungsdauer auf 10 Minuten und die Konzentration auf 0.25 $^0/_0$ steigert.

Indessen ist es gleichwohl möglich, die neugefundenen Thatsachen mit den Ansichten Fol's in Einklang zu bringen. Wir haben bei der Bildung der Dottermembran zwei Eigenschaften des Protoplasma's zu unterscheiden: 1. seine sekretorische Fähigkeit, 2. seine Erregbarkeit. Wie eine Drüsenzelle ihr Sekret nur bei einem bestimmten Maß der Erregung liefert, so wird auch die Eizelle ein Minimum von Reiz notwendig haben, um die Membran zu erzeugen. Dieses Minimum des Reizes oder die Reizschwelle sei bei normalen Eiern durch das Eindringen eines Spermatozoon geliefert.

Nun wäre es gut denkbar, daß die sekretorische Fähigkeit des Eies durch die genannten Einwirkungen zunächst gar nicht verändert werde und nur seine Sensibilität eine Verminderung erführe.

Je nach dem Grad der Herabminderung würde derselbe Erregungszustand erst durch den doppelten, dreifachen etc. Reiz herbeigeführt werden. Wo sonst ein Spermatozoon genügte, würden dann zwei, drei oder mehr notwendig sein. Sowie aber die benötigte Reizschwelle erreicht ist, würde die Sekretion in ganz derselben Weise ausgelöst werden wie normal.

Ob der Erklärungsversuch berechtigt ist, läßt sich in einfacher Weise experimentell prüfen, indem man die Konzentration des Samens wechselt. Wir wissen, daß bei normalen Eiern die

Konzentration des Samens keinen Einfluß hat, daß auch bei großen Mengen von Samen gleichwohl nur ein Spermatozoon befruchtet. Wäre nun nach Reagentienbehandlung alles geblieben wie bisher, mit der Ausnahme, daß die Wirkung eines Spermatozoons erst durch zwei, drei und mehr Spermatozoen erreicht würde, so müßte auch hier die Konzentration der Samenflüssigkeit für den Grad der Polyspermie gleichgültig sein. Man müßte die Experimente so einrichten, daß man ein und dasselbe mit Agentien behandelte Eimaterial in verschiedene gleich große Portionen teilte und mit dem gleichen Volumen Samenflüssigkeit befruchtete. Die Samenflüssigkeit müßte demselben Thier entnommen und zu den verschiedenen Befruchtungen auf das zwei-, drei- und vierfache mit Meerwasser verdünnt werden, so daß in den gleichen Volumina nur $^1/_2$, $^1/_3$ oder $^1/_4$ so viel Spermatozoen sind wie in der Normalflüssigkeit.

Obwohl wir uns nun auch auf keine methodischen Experimente berufen können, so scheinen doch die hier gemachten Voraussetzungen vollkommen zuzutreffen; aus einigen wenigen Versuchen haben wir den Eindruck gewonnen, als ob auch bei den mit Chloroform, Chinin etc. behandelten Eiern die Konzentration der Samenflüssigkeit keinen Einfluß auf den Grad der Polyspermie habe.

Wenn es sich nun auch weiter bestätigen sollte, daß bei den Eiern der Seeigel und zahlreicher anderer Tiere die Bildung der Dotterhaut eine Schutzvorrichtung gegen Überfruchtung ist, so kann doch nicht in Abrede gestellt werden, daß auch das Protoplasma als solches eine abweisende Kraft besitzt. Wiederholt sind unter normalen Verhältnissen innerhalb der Dotterhaut Spermatozoen beobachtet worden; wir selbst haben es zweimal gesehen, daß bei Eiern, welche nach Morphiumbehandlung polysperm befruchtet worden waren, einige Spermatozoen im Zwischenraum zwischen Ei und Dotterhaut herumschwammen und abstarben, ohne in das Dotterinnere zu gelangen. Unter allen Umständen müssen wir dem Eiplasma eine die Spermatozoen abweisende Kraft zuschreiben, da ja bei den Bastardierungen Spermatozoen verwandter Arten mit einer nicht zu bewältigenden Energie von der Befruchtung ausgeschlossen werden.

Übrigens handelt es sich hier gar nicht um Eigenschaften, welche nur dem Protoplasma des Eies zukommen, da auch bei den Protozoen analoge Verhältnisse nachgewiesen werden können. Zwei Amoeben haben es in ihrer Gewalt, wenn sie sich berühren, zusammenzufliessen, oder ohne vorangegangene Verschmelzung sich

wieder voneinander zu entfernen; ja selbst zwei Pseudopodien desselben Tieres können getrennt bleiben oder durch eine Anastomose sich vereinigen, was je nach der Art bald leichter bald schwieriger gelingt. Von der Beschaffenheit des Protoplasma hängt es jedenfalls auch ab, ob Infusorien, z. B. zwei Paramaecien, miteinander kopulieren.

Dritter Abschnitt.

Veränderungen in der Konjugation der Geschlechtskerne (innere Befruchtungsvorgänge).

Wie man es in der Hand hat, durch geeignete Behandlung der Eier vor der Besamung abnorme Befruchtungen sei es Bastardierung sei es Polyspermie zu erzeugen, so kann man auch durch Einwirkung chemischer Agentien auf normal besamte Eier den weiteren Verlauf der Prozesse, die sich im Inneren des Eies abspielen und mit der Konjugation des Ei- und Spermakerns enden, durch geeignetes Verfahren umgestalten, ohne daß dabei das befruchtete Ei zu Grunde geht.

Unsere im speziellen Teil dargestellten Beobachtungen haben dargethan, daß man die Kopulation der Kerne entweder nur verzögern oder dauernd verhindern kann. Das erstere gelingt mittelst einer 0.05 % Chininlösung, welche 1 Minute nach der Befruchtung während 10 Minuten auf die Eizellen angewandt wird. Da das Hantelstadium erst nach 2 Stunden eintritt, während es normalerweise ca. $^3/_4$ Stunden nach der Kopulation der Kerne sich ausbildet, können wir schließen, daß letztere um eine volle Stunde verzögert wird. In der Zeit der Ruhe fehlt im Ei die Strahlung; erst wenn diese wieder zur Geltung kommt, geht der Befruchtungsprozeß seinem Ende entgegen, und im weiteren Verlauf teilen sich die Eier nahezu in normaler Weise. Mit der Verlangsamung der inneren Befruchtung hängt es zusammen, daß der Spermakern, wie wenigstens in einigen Fällen durch direkte Beobachtung festgestellt werden konnte, nicht als kompakter Körper mit dem Ei-

kern zusammentrifft, sondern zuvor zu einem Bläschen umgewandelt wird.

Ob durch verstärkte Chininwirkung die normale Vereinigung der Kerne dauernd verhindert werden kann, haben wir nicht untersucht; es ist aber sehr wahrscheinlich und wird sich wohl durch methodisch durchgeführte Beobachtungen, die wir uns vorbehalten, erweisen lassen, da das Resultat durch das so ähnlich wirkende Chloral vollkommen erreicht werden kann.

Wenn wir die Untersuchungsreihen über die Chloralwirkung überblicken, so haben sie sämmtlich das Gemeinsame, daß es nirgends zu einer normalen Befruchtung kommt. Dieses Resultat ist zweifellos bei der ersten und dritten Serie, bei denen wir mit Bestimmtheit haben verfolgen können, daß Eikern und Spermakern getrennt blieben, ein jeder für sich Veränderungen eingingen und sich teilten. Für die zweite Serie fehlten uns die entscheidenden Stadien; wenn man aber bedenkt, daß sie zeitlich sich zwischen beide schiebt, daß die Behandlungsweise die gleiche war und daß die Anfänge einer gesonderten Metamorphose von Ei- und Spermakern haben beobachtet werden können, so schwinden wohl alle Zweifel daran, daß auch hier die innere Befruchtung nicht zum Abschluß gelangt ist.

Bei Serie 4 begann die Chloralbehandlung mit dem Moment, wo beide Kerne schon dicht zusammengefügt waren, und die Zusammenfügung ihrer Substanzen nahm sogar die erste Zeit über noch weiter zu. Nach der Ansicht van Beneden's wäre hiermit die Befruchtung schon vollendet, denn nach ihm sollen ja die Substanzen beider Kerne sich überhaupt nicht durchdringen, sondern während aller Furchungsstadien nebeneinander hergehen. Indessen wir glauben, daß gerade die an der 4. Serie gewonnenen Resultate der Ansicht v. Beneden's bestimmt widersprechen, wir glauben behaupten zu können, daß selbst in diesen Fällen die Befruchtung nicht abgeschlossen war.

Um unsere Ansicht zu beweisen, müssen wir etwas weiter ausholen und im Zusammenhang die Veränderungen besprechen, welche die Geschlechtskerne erleiden, wenn sie an der Kopulation verhindert werden. Dieselben beginnen bei dem Spermakern, welcher anwächst und sich mit Flüssigkeit umgiebt (Taf. III Fig. 12 u. 16, Taf. V, Fig. 1). Darin ist prinzipiell nichts Neues gegeben, da auch bei Eiern, wo die Befruchtung vor Ablauf der Eireife erfolgt, eine Vergrößerung und Vakuolisierung des Spermakerns eintritt in der Zeit, wo er genötigt ist, im Protoplasma

des Eies zu verweilen, bis der Eikern die zur Vereinigung nötige Beschaffenheit angenommen hat. In diesem Zustand ist daher eine normale Befruchtung noch möglich, wie uns die Chininserie gelehrt hat.

Dauern die eine Befruchtung hindernden Ursachen fort, so tritt die faserige Differenzierung beider Kerne ein und damit erlischt — wenigstens müssen wir dieses Resultat aus unseren Beobachtungen entnehmen — die Fähigkeit der Kerne sich zu vereinigen. Bei der faserigen Differenzierung ist nun folgendes von Wichtigkeit. Anfänglich verhalten sich beide Kerne verschieden, so daß man lange Zeit Spermakern und Eikern unterscheiden kann; der letztere durchläuft wahrscheinlich konstant das Fächerstadium, das Stadium einer einpoligen Faseranordnung (Taf. III, Fig. 17, Taf. V, Fig. 17—19), auf dem von einem Punkt die achromatischen Fäden radial ausstrahlen, während die chromatischen Teile an ihren Enden angebracht sind. Der Kern wird dann allmählich 4 polig, indem die chromatischen Schlingen einen zentralen Haufen bilden, die Spindelfasern dagegen von 4 Punkten aus divergierend an und in diesen Haufen hineintreten (Taf III, Fig. 13, 18, 19; Taf. V, Fig. 22 u. 23).

Der S p e r m a k e r n wandelt sich zu analogen Figuren um, nur daß er kompakter bleibt. Der Fächerform ließe sich das Stadium zur Seite setzen, wo am Körper des Spermakerns ein achromatischer stielartiger Aufsatz angefügt ist (Taf. III, Fig. 16; Taf. V, Fig. 1); der 4 poligen Anordnung muß die Ordenssternform verglichen werden. Denn auch hier haben wir eine zentrale wenn auch viel gedrungenere Anhäufung von Chromatin, welcher 4, häufig auch nur 3 Kegel von Spindelfasern aufsitzen (Taf. III, Fig. 12, 18, 19 sp.; Taf. V, Fig. 16, 18, 25 etc.). Wir glauben, daß diese Unterschiede, so interessant sie an und für sich sind, keine grössere Bedeutung besitzen. Sie hängen damit zusammen, daß der Eikern sich schon lange im Eiplasma befindet und durch Aufnahme von Flüssigkeit in eine Blase umgewandelt hat, in welcher die Kernteile zu einem Netz auseinandergelegt sind. Obwohl nun auch der Spermakern sich mit Kernsaft imbibiert hat, so ist seine Masse doch nicht in gleichem Maße gelockert. Wir sind fest überzeugt, daß bei der Chloralisierung von Eiern, in denen vermöge der verlangsamten Art der Befruchtung der Spermakern ein retikuliertes Bläschen und dadurch dem Eikern ähnlich geworden ist, die Unterschiede schwinden werden. Wahrscheinlich wird dann auch der Vorsprung schwinden, welchen der Eikern nament-

lich bei der dritten Serie vor dem Spermakern in der faserigen Differenzierung gewonnen hat, und sie werden dann beide gleichzeitig das Stadium des Rosettenkerns erreichen.

Unter dem Namen „Rosettenkerne“ haben wir Kernfiguren beschrieben, bei denen das Chromatin eine Umlagerung von den zentralen Partien an die Kernpole erfahren hat (Taf. III, Fig. 22; Taf. V, Fig. 26—31). Die achromatischen Teile sind dabei im Verhältniß zu früheren Stadien weniger verändert; nach wie vor divergiren die Fasern von den einzelnen Polen, um einen benachbarten oder einen opponierten Pol zu erreichen. Den Namen haben wir daher auch mit Rücksicht auf die Anordnung des Chromatins gewählt, weil dasselbe aus kleinen Stäbchen besteht, welche um jeden Pol in Form einer Rosette angeordnet sind.

Auffallend ist auf diesem Stadium die Anzahl der Kernpole. Dieselbe beträgt nicht immer, wie es auf dem früheren Stadium die Regel ist, 4, sondern kann kleiner oder auch größer sein. Außer 4poligen giebt es 3, 5 und 6polige Rosettenkerne. Im ersteren Fall ist 1 Pol offenbar rückgebildet worden, in den beiden letzteren sind 2 Pole neu entstanden. Diese Unterschiede hängen wahrscheinlich mit der geringeren oder größeren Verlangsamung zusammen, welche unter dem Einfluß des Chlorals die Kernmetamorphose erfahren hat. Durch unsere Untersuchungen wissen wir, daß auch bei gewöhnlicher Zweiteilung des Kerns Tetrasterfiguren entstehen, wenn durch äußere Einflüsse der normale Verlauf des Prozesses behindert wird. Es ist das nicht ohne Interesse; denn wir können daraus entnehmen, daß die Kräfte, welche im Kern auf eine polare Differenzierung hinarbeiten, ununterbrochen thätig sind, auch wenn sie an einer Entfaltung nach außen (Spindelbildung) verhindert sind. Ob 3, 4 oder 6polige Kerne entstehen, hängt davon ab, auf welchem Zustand innerer Veränderung dem Kern die Möglichkeit gegeben wird, die faserige Umwandlung zu erleiden. Dieser Moment kann eintreten, wo der Kern noch nicht vollkommen zur Vierteilung vorbereitet ist. Dann wird durch Anlage von 4 Polen der Versuch einer solchen gemacht, im weiteren Verlauf aber erlahmt gleichsam die Tendenz und es entstehen — um gleich auf unsere Fälle die Nutzanwendung zu machen — die 3 oder 2poligen Rosettenkerne; oder der Moment ist später eingetreten, dann bilden sich 5 oder sogar 6 Pole aus.

Insofern bei den Rosettenkernen eine Verlagerung des ursprünglich zentral angehäuften Chromatins an die Kernenden sich

vollzogen hat, lassen sie sich als Teilungsfiguren deuten; die Chromatinrosetten an den Polen sind dann den Seitenplatten bei der normalen Kernteilung zu vergleichen, die mediane Anhäufung des Chromatins, welche vorausgeht, wäre dann eine äußerst unregelmäßig entwickelte Mittelplatte. Vielleicht gelingt es auch, Spaltung der Stäbchen der Mittelplatte nachzuweisen und so die Übereinstimmung mit gewöhnlicher Kernteilung noch klarer darzuthun.

Immerhin sind die Unterschiede zur normalen Kernteilung schon um diese Zeit nicht unbedeutend; ganz abgesehen davon, daß eine größere Polanzahl vorhanden ist, haben auch die achromatischen Fäden nie eine so reguläre Anordnung. Man vergleiche nur die bei Polyspermie entstehenden Tetrasterfiguren (Taf. I, Fig. 16 u. 21; Taf. III, Fig. 3) und man wird ebenfalls finden, daß die größere Zahl der Kernecken nicht den einzigen Unterschied ausmacht.

Die Unterschiede zur normalen Teilung werden im Verlauf noch deutlicher, insofern zwar eine Bildung von Tochterkernen eintritt, der ganze Prozeß aber durch Verschmelzung der Teilstücke wieder rückgängig gemacht wird (Taf. IV, Fig. 3, 4, 8, 12, 13, 15, 5). Dafür daß die Teilstücke nicht zu weiterer Entwicklung befähigt sind, sondern sich wieder vereinigen, kann man die Chloralbehandlung nicht verantwortlich machen. Wenn 3 Stunden verflossen sind, sehen wir in anderen Fällen, daß die Eier und ihre Kerne sich so weit erholt haben, daß eine wenn auch etwas pathologische Teilung möglich ist. Auch stehen die Kernumwandlungen nicht ohne jede Analogie. Bei den Infusorien z. B. teilen sich vielfach Haupt- und Nebenkerne ebenfalls in Teilstücke, welche nach einiger Zeit wiederum verschmelzen. Es müssen somit andere Ursachen den Ausschlag geben und diese erblicken wir darin, daß Eikerne und Spermakerne getrennte Kerne mit unvollkommenen Eigenschaften sind. Was die Befruchtung leisten soll, eine Ausstattung der Kerne mit allen zum Zellenleben nötigen Eigenschaften, ist eben unterblieben.

Diesen Punkt im Auge behaltend kehren wir nun wieder zur Frage zurück, ob die Fälle der Serie 4, in denen Ei- und Spermakerne sich zur Zeit der Chloraleinwirkung schon aneinander gelegt hatten, eine normale Befruchtung repräsentieren (Taf. VI, Fig. 12—15). Wir glauben die Frage verneinen zu sollen, weil die Umbildungen des scheinbar einheitlichen Kerns dieselben sind, wie die Umbildungen der getrennten Geschlechtskerne. Entschei-

dend sind die Endstadien. Wir erhalten einen rosettenförmigen Kern, welcher so viel Ecken hat, wie sonst Spermakern und Eikern zusammen genommen, als wäre er durch eine Aneinanderlagerung beider gebildet (Taf. VI, Fig. 6, 7, 18, 19, 21, 22). Wir haben ganz dieselbe Figur erhalten, wenn die faserig differenzierten Geschlechtskerne erst später zusammentreten. Bei der Teilung ergiebt sich, daß der Kern nicht die Qualitäten zu einer normalen Fortentwicklung besessen hat. Denn alle Kernstücke verschmelzen nach einiger Zeit von neuem (Taf. VI, Fig. 25, 26, 27; Taf. VII, Fig. 4—9). Und so sprechen wir uns dahin aus, daß eine einfache Aneinanderlagerung der Kerne nicht für die Befruchtung ausreicht, sondern eine Durchdringung beider Substanzen erforderlich ist. Indem Chloral die Fähigkeit besitzt, auch da, wo die Kerne schon fest aneinander gelagert sind, die weitere Durchdringung beider Substanzen zu verhindern, hebt es auch in vorgerückten Fällen die Befruchtung auf.

Es wäre nun erwünscht, die Richtigkeit dieser Ansicht weiter experimentell zu prüfen. Man müßte noch einige spätere Serien (20, 25 u. 30 Minuten nach der Besamung) anfertigen; bei einer derselben müßte gerade der Moment der gänzlich vollzogenen Befruchtung getroffen sein, ohne daß die Vorbereitung zur Teilung schon erkennbar wäre. Wahrscheinlich würde dann der Kern ganz andere Bilder liefern. Leider haben wir zur Prüfung dieser Frage kein Material und müssen den Entscheid derselben ebenfalls auf später vertagen.

Bei Erwägung aller Beobachtungen, welche die Umbildung der isolierten und der vereinigten Geschlechtskerne betreffen, sind wir zum Resultat gekommen, daß nur dann, wenn die Substanzen von Ei- und Spermakern sich ganz durchdringen, Kerne entstehen, welche mit allen für die weitere Entwicklung nötigen Lebenseigenschaften ausgerüstet sind, daß aber dieser Satz insoweit einer Einschränkung bedarf, als auch ohne Vereinigung die Kerne gewisse Eigenschaften gewinnen, die ihnen ursprünglich fehlten. Es wird dies sofort klar, wenn wir die Kerne der Geschlechtszellen vergleichen in den Fällen, wo eine Vermischung der Sexualprodukte unterblieben ist, und in denjenigen, wo eine Besamung ohne darauf folgende Vereinigung der Kerne stattgefunden hat. Der Kern der unbesamten Eizelle bleibt auch bei

langem Liegen ein Kernbläschen; es ist gar nicht anzunehmen, daß durch die Einwirkung des Chlorals darin ein Wandel herbeigeführt werden würde, wenn wir auch die experimentelle Prüfung dieser Frage, welche ja leicht auszuführen ist, zu einem sicheren Entscheid für notwendig halten. Die Kerne der Spermatozoen bleiben, wie wir durch vielfache Versuche wissen, unter allen Umständen, auch bei Chloralisierung unverändert. *Dagegen erhalten Eikern und Spermakern die Eigenschaft, ein jeder für sich getrennt sich faserig zu differenzieren und achromatische Fäden und chromatische Schleifen zu bilden, wenn Ei und Samenzellen miteinander vereinigt werden.*

Daher lohnt es sich die Ursachen zu untersuchen, welche die Umstimmung der Kerne herbeiführen. Wenn der Eikern die Fähigkeit zur faserigen Differenzierung und eine wenn auch unvollkommene Teilfähigkeit nur im befruchteten Eiplasma gewinnt, so kann zweierlei dazu die Veranlassung sein, entweder die Veränderung des Eiplasmas selbst, welche durch die Vermischung mit Substanzen des Spermakörpers oder durch den thatsächlich nachweisbaren Stoffaustausch zwischen Protoplasma und Spermakern herbeigeführt wird, oder es ist irgend eine Art Fernwirkung, welche der Spermakern auf den Eikern ausübt. Wir haben kein Mittel, diese Frage nach der einen oder anderen Seite direkt zu entscheiden, da es wohl kaum möglich sein wird, eine Befruchtung so zu bewerkstelligen, daß nur die accessorischen Bestandteile des Spermatozoons ohne den Spermakern bei der Befruchtung eindringen.

Um die Veränderungen des Spermakerns zu erklären, stehen uns ebenfalls 2 Möglichkeiten zu Gebote: entweder ist es ein vom Eikern ausgehender Einfluß, oder der Einfluß der veränderten Umgebung, mit andern Worten der Einfluß des Eiplasmas. Im vorliegenden Fall können wir nun die erstere Möglichkeit ausschließen; durch Schütteln von Eiern kann man Bruchstücke ablösen, welche keinen Kern enthalten, in welche aber die Spermatozoen eindringen und sich zu Spindeln umbilden (Taf. II, Fig. 15 u. 18). Daraus *geht mit Sicherheit das Eine hervor, daß das Eiplasma allein ausreicht, um den Spermakernen die Fähigkeit zur Spindelbildung zu verleihen.* Daß die Art der Umwandlung eine andere ist, daß namentlich keine Rosettenkerne entstehen, wäre aus der mangelnden Einwirkung des Chlorals leicht verständlich; es wäre aber auch denkbar, daß das

Plasma in den abgelösten Stücken ein anderes ist als in dem Ei mit Eikern. Man berücksichtige, daß ja dieser in Umbildung begriffen ist, daß dadurch fortdauernd eine Wechselwirkung mit dem Protoplasma unterhalten wird, vermöge deren dasselbe jedenfalls noch weitere Veränderungen erfährt. Wir haben allen Grund anzunehmen, daß solche Veränderungen beständig vor sich gehen und daß das Protoplasma während aller der geschilderten Veränderungen zu keiner Zeit das nämliche bleibt. Um diese Auffassung noch mehr zu befestigen, verweisen wir auf die höchst interessanten gelegentlichen Beobachtungen, die wir in bezug auf das Eindringen von Spermatozoen in unreife Eier gemacht haben. Die äußeren Bedingungen waren in allen diesen Fällen die gleichen (Chloralbehandlung); aber wie ganz verschieden das Verhalten der Spermatozoen? Bei Eiern mit Keimbläschen gar keine Veränderung, keine Reaktion von seiten des Protoplasma's des Eies; wenn die Richtungsspindel angelegt ist, bleiben die Köpfe der Spermatozoen unverändert, aber die Strahlung des Plasma's ist schwach ausgeprägt (Taf. VII, Fig. 2). Erst nach der Bildung des ersten Richtungskörpers fängt der Stoffaustausch zwischen Spermakern und Eiplasma an, ohne daß aber dabei eine faserige Umbildung vorkäme. Die Ei- und Spermakerne bleiben Bläschen (Taf. VII, Fig. 1).

Wie in so vielen Fällen so werden wir auch hier wieder dazu geführt in den lebenden Substanzen eine Komplikation der Vorgänge auzunehmen, welche jeder mechanischen Erklärung spottet. Damit soll nun keineswegs gesagt sein, daß wir überhaupt nicht versuchen sollen, allmählich eine mechanische Erklärung der Lebensvorgänge anzustreben und vorzubereiten; nur werden wir uns mit wenigem bescheiden und schon uns zufrieden geben müssen, wenn es gelingt, einen komplizierten Lebensvorgang in seine einzelnen Componenten aufzulösen. Auch im Folgenden soll nichts anderes angestrebt werden, wenn wir nun noch zum Schluß die Frage aufwerfen, welche Kräfte im Ei thätig sind, um bei normaler Befruchtung das Zusammentreffen von Ei- und Spermakern herbeizuführen.

Da durch Chloralwirkung die Befruchtung aufgehoben wird, muß diese chemische Substanz die Fähigkeit besitzen, vorübergehend die treibenden Kräfte zu beseitigen. Über ihre Wirkungsweise können wir uns mit Bestimmtheit dahin äußern, daß eine Lähmung des Protoplasma's eintritt. Die Eizelle verliert vorüber-

gehend die Fähigkeit der Teilung; die Strahlungen, welche höchstwahrscheinlich auch Kontraktionserscheinungen sind, hören auf, die Spermatozoen verlieren ihre Beweglichkeit. Alles das macht es sehr wahrscheinlich, daß die Kontraktilität des Protoplasma für das Zusammentreffen der Teile von großer Bedeutung ist. Wir stellen uns die Verhältnisse folgendermaßen vor. Im normal funktionierenden Ei erzeugt das Spermatozoon einen Reiz und löst dadurch eine Kontraktion aus, welche zur Folge hat, daß die im Protoplasma eingebetteten Körper, Ei- und Spermakern, durch eine konzentrische Bewegung nach ein und demselben Punkt transportiert werden.

Man könnte dieser Erklärung den Einwand machen, daß damit noch nicht verständlich sei, warum eine Annäherung der Kerne auch dann unterbleibt, wenn die Chloralwirkung vorüber ist und die Kontraktilität des Eies von neuem erwacht. Allein dann sind die Bedingungen durchaus andere; dann wirken beide Kerne, ein jeder mit mehreren Ecken, als Reizzentren. Anstatt daß nur der Spermakern Ausgangspunkt einer einfachen Strahlungsfigur ist, sind solche sowohl an seinen Polen wie an denen des Eikerns in größerer Zahl entwickelt; ja in einiger Entfernung von den Kernen frei im Protoplasma können Strahlungen auftreten.

Die Annahme, daß das Protoplasma eine Lähmung erfahren hat, reicht zur Erklärung für das Unterbleiben der Befruchtung nicht aus in den Fällen, wo Ei- und Spermakerne bei einander liegen; denn dann hat ja das Protoplasma seine Rolle ausgespielt. Wenn auch nicht in gleichem Maße, so muß durch Chloral auch die Substanz des Kernes eine Lähmung erfahren. Das würde mit den Erfahrungen stimmen, welche wir über Chloralwirkung bei Teilung gesammelt haben, wo ja auch die Weiterentwicklung des Kerns unterbleibt. Immerhin ist die Lähmung des Kerns nicht so langdauernd; das Protoplasma ist noch wie tot und unbeweglich, wenn im Kerne schon Veränderungen beginnen, wie die Vakuolisierung und später auch die faserige und chromatische Umbildung.

Wir haben bis jetzt die Fälle betrachtet, wo die Besamung unter normalen Verhältnissen erfolgt war und nur der weitere Fortgang der Befruchtung eine Störung erfahren hatte. In das Kapitel, welches die Veränderung der inneren Befruchtung behandelt, gehören aber auch die Erscheinungen, welche eintreten, wenn viele Spermakerne in das Plasma der Eizelle aufgenommen werden. Auch dann begegnen wir interessanten Bildern, welche in

den Mechanismus der Befruchtungsvorgänge uns manchen Einblick gestatten.

Wenn wir zunächst uns über das Schicksal des Eikerns orientieren, so sind 3 Fälle möglich und von uns auch direkt beobachtet worden: 1. Der Eikern kopuliert nur mit 1 Spermakern; bei der Teilung bildet er dann eine einfache Spindel. 2. Der Eikern kopuliert mit 2 und mehr Spermakernen und erzeugt 4- und mehrpolige karyokinetische Figuren (Taf. I, Fig. 1—4). 3. Der Eikern bleibt für sich und nimmt namentlich durch Flüssigkeitsaufnahme rasch an Größe zu (Taf. II, Fig. 2) Der letztgenannte Fall tritt um so häufiger ein, je bedeutender die Zahl der eingedrungenen Spermatozoen ist. Von vornherein hätte man wohl das Gegenteil erwarten sollen; wenn viele Spermakerne vorhanden sind, so wären die Aussichten, daß beiderlei Kerne zusammentreffen, günstiger als bei Monospermie, vorausgesetzt, daß das Zusammentreffen von mehr zufälligen Momenten herbeigeführt würde. Von diesem Gesichtspunkt aus gewinnt die Beobachtung sehr an Bedeutung, da sie uns erkennen läßt, daß die Vereinigung der Geschlechtskerne von streng geregelten Prozessen abhängt und daß die gesetzmäßige Verkettung dieser Vorgänge unter anderem auch bei Polyspermie gelöst ist.

Auch die Annahme, daß eine direkte Anziehung von Kern zu Kern vorliegt, erscheint ausgeschlossen, denn auch hierfür würde hochgradige Polyspermie günstige Bedingungen liefern, weil unter vielen Spermakernen einige, vermöge größerer Nähe, in günstigere Lage zum Eikern kommen müssen.

Dagegen erblicken wir in der behinderten Vereinigung der Kerne einen neuen Beweis für die Ansicht, daß die normale Erledigung der Befruchtung durch eine gesetzmäßig verlaufende Kontraktion des Plasma's herbeigeführt wird, eine Kontraktion, welche Eikern und Spermakern im Mittelpunkt der Kontraktionsbewegung zusammentreibt. Es ist selbstverständlich, daß die Vorbedingungen hierfür nur gegeben sind, wenn ein einziger einheitlich wirkender Reizerreger in das Ei eingeführt wird, daß dagegen die Aussichten um so ungünstiger werden müssen und dem Zufall bei der Vereinigung der Kerne ein um so weiterer Spielraum eingeräumt sein muß, je mehr Spermakerne im Ei vorhanden sind.

Bei der Polyspermie kommt noch eine zweite Abnormität zur Beobachtung, welche in gleichem Sinn gedeutet werden muß. Während bei normaler Befruchtung der Furchungskern und demgemäß auch die Furchungsspindel

eine zentrale Stellung annimmt, liegen dieselben bei Polyspermie fast ausnahmslos exzentrisch. Namentlich, wenn nur ein Spermatozoon mit dem Eikern kopuliert hat und die Befruchtung, soweit es sich um Vereinigung der Kerne handelt, möglichst normal verlaufen ist, scheint eine periphere Lage der Spindel die Regel zu sein. Unregelmäßigkeit der Kontraktionsbewegung infolge zahlreicher Reizerreger ist auch hier wohl die naturgemäßeste Erklärung. Die Unregelmäßigkeit wird sich mindern, je mehr Spermakerne in den Eikern aufgenommen werden, weil dann seine Wichtigkeit als Kraftzentrum sowohl absolut durch Vermehrung seiner Masse, als auch relativ durch Verminderung konkurrierender Faktoren zunehmen wird.

Dementsprechend liegen die aus vielbefruchteten Furchungskernen hervorgehenden karyokinetischen Figuren mehr oder minder zentral.

Wir nehmen hier die Gelegenheit wahr, auf die exzentrische Lage der Spindel aufmerksam zu machen, welche auch zu beobachten ist, wenn Eier vor der Befruchtung erwärmt werden. War die Wärmeeinwirkung nicht allzu stark, so dringt meist nur ein Spermatozoon ein; es kann der Spermakern auch mit dem Eikern verschmelzen. Trotzdem bleiben Furchungskern und Furchungsspindel exzentrisch, weil die Kontraktilität des Protoplasma durch Wärme gelähmt wird.

Gehen wir nun zur Vereinigung der Kerne selbst über, so haben wir mit Sicherheit feststellen können, daß zwei bis drei Spermakerne mit dem Eikern verschmelzen. Von vornherein muß man schon erwarten, daß die Spermakerne nicht auf einmal dem Eikern einverleibt worden sind, sondern sich ihm nach und nach angefügt haben. Die Beobachtung giebt uns hierfür Beweise an die Hand. Die Substanz von 1—2 Spermakernen kann dem Retikulum des Eikernes schon fast vollkommen eingefügt sein, wenn andere erst eine oberflächliche Anlagerung erzielt haben. Die Fähigkeit des Eikernes, Spermakerne in sich aufzunehmen, scheint somit eine bedeutende zu sein und fortzudauern, auch wenn schon eine oder mehrere Kopulationen stattgefunden haben.

Vielfach spricht man bei der Befruchtung von dem Ausgleich geschlechtlicher Differenz und denkt dabei an die Verhältnisse chemischer Verbindungen, wo ein Ausgleich d. h. Neutralisierung eintritt, wenn Säuren und Alkalien vereinigt werden. Das scheint nun nach dem Obigen eine schlechte Analogie zu sein, da die

Affinitäten des Eikernes zur Substanz des Spermakernes nicht vermindert werden, wenn er männliche Kernsubstanz in sich aufgenommen hat.

Bei den von uns erzielten Polyspermieen ist noch von Wichtigkeit das Schicksal der Spermakerne, welche nicht mit dem Eikern sich vereinigen. Diese erleiden die faserige Differenzierung und gehen in kleine Spindelchen über, welche sich nur durch ihre geringere Grösse von regulären Furchungsspindeln unterscheiden, im weiteren Verlauf sich auch wie diese teilen. Was aus den Teilprodukten wird, bedarf genauerer Untersuchung.

Wir begegnen hier auf's neue der Eigenschaft des Spermakerns, im Ei seine Teilungsfähigkeit wiederzugewinnen, wenn er vom weiblichen Kern getrennt gehalten wird; wir haben oben schon auseinandergesetzt, warum wir annehmen müssen, daß für die Veränderung allein das Plasma des reifen Eies maßgebend ist; ebenso haben wir schon die einzelnen Möglichkeiten erörtert, welche herangezogen werden können, um zu erklären, weshalb der Spermakern in vielen Fällen zu einer Spindel wird, während er in anderen Fällen (bei Behinderung der inneren Befruchtung durch Chloral) eine vierpolige Figur erzeugt, so daß wir nicht nötig haben, darauf zurückzukommen.

Spermaspindeln können sich mit dem in Teilung begriffenen Furchungskern nachträglich vereinigen, indem sie mit einem Ende in einen der Pole desselben eintreten. Prinzipiell ist dieser Vorgang derselbe. als wenn die vierpoligen Kerne, welche entstehen, wenn Eikern und Spermakern durch Chloral an der Vereinigung verhindert werden, durch Aneinanderlagerung sich zu einer sechs- oder siebenpoligen Figur kombinieren. Man kann das nicht als eine nachträgliche Befruchtung auffassen, denn von den beiden teilweise vereinigten Kernen kommen jedesmal nur die einander zugewandten Enden zu der für das Wesen der Befruchtung nötigen innigen Durchdringung, während die anderen Enden getrennt bleiben.

Vierter Abschnitt.

Abänderung der Furchungserscheinungen.

Den Furchungsprozeß haben wir bei unseren Experimenten in dreifacher Weise verändert: 1. indem wir die Eier nach der Befruchtung mit Reagentien behandelten, 2. indem wir die Eier polysperm befruchteten, 3. indem wir das Zustandekommen der Befruchtung verhinderten. Wir haben dabei die auffallende Wahrnehmung gemacht, daß bei der ersten und zweiten Behandlungsweise sehr viel ähnliche Bilder entstehen, welche wir an erster Stelle besprechen wollen.

Manche der von uns angewandten Mittel haben auf den Verlauf der Furchung so gut wie gar keinen Einfluß, entweder weil sie durch die Dotterhaut am Eindringen behindert sind, oder, was das Wahrscheinlichere ist, weil sie die für den Furchungsprozeß wichtigen Eigenschaften des Eies nicht verändern. So scheinen Morphium, Strychnin, Nikotin etc. nur insofern zu wirken, als sie im allgemeinen schädlich sind und die Lebensfähigkeit des Eies herabsetzen.

Dagegen sind Chinin und Chloral für uns von großer Wichtigkeit, da beide nicht allein den Furchungsprozeß verzögern, sondern sogar bewirken, daß vorbereitende Kern- und Dotterveränderungen wieder rückgängig gemacht werden. Die Unterschiede zwischen beiden Reagentien sind von keiner prinzipiellen Bedeutung, so daß wir sie hier unter Hinweis auf den speziellen Teil unberücksichtigt lassen können.

Wenn der Furchungskern schon die Form der Spindel angenommen hat und der Chloral- oder Chininwirkung unterliegt, so verliert er seine faserige Beschaffenheit und wird ein Haufen kleiner Bläschen, wie sie auch bei der Kernteilung durch Umwandlung der Chromatinteilchen entstehen. Die Bläschen verschmelzen zu einem einheitlichen Kern, welcher wesentlich größer ist als der Furchungskern. Wenn nun die Eizelle sich erholt, beginnt auch wieder die unterbrochene Kernteilung (Taf. III, Fig. 1—5 und Fig. 6—11); nur entstehen jetzt an 4 ungefähr gleich weit voneinander entfernten Punkten der Oberfläche Strahlungen und im weiteren Verlauf 4 Spindeln, welche so im Viereck angeordnet sind, daß je zwei Enden benachbarter Spindeln

im Mittelpunkt einer Strahlung zusammentreffen. Dazu kann noch eine fünfte diagonal gestellte Spindel kommen, was es mit sich bringt, daß zwei gegenüberliegende Strahlungen je 3 Spindelenden enthalten (Fig. 3). Andererseits kann aber auch eine von den 4 typischen Spindeln verlagert sein, die 3 anderen schließen dann zu einem Dreieck zusammen (Fig. 1), die 4. Spindel beginnt mit einem Ende an einer Spitze des Dreiecks und ragt mit dem andern Ende in den Dotter hinein. Wenn es nunmehr zur Teilung kommt, entstehen in allen Fällen 4 Kerne, ein Zeichen, daß jene Variationen des Prozesses von untergeordneter Bedeutung sind. Die 4 Kerne teilen sich im weiteren Verlauf durch regelmäßig erfolgende Spindelbildung weiter. Nur das Protoplasma verhält sich lange Zeit über pathologisch. Bei Chinin weniger als bei Chloral ist es gelähmt und kann infolgedessen den Veränderungen des Kerns nicht folgen. Gewöhnlich werden die Teilungen unvollständig.

Aus der Reihe der mitgeteilten Erscheinungen ist für uns das Wichtigste, daß der Kern in seinen Umgestaltungen aufgehalten wird und sich wesentlich verspätet teilt; in der Zwischenzeit hat er sich aber durch Substanzaufnahme vergrößert, wodurch es ihm ermöglicht wird, sich direkt in 4 Stücke zu teilen. Der gesamte Entwicklungsprozeß würde somit nicht verlangsamt werden, wenn nicht durch die Reagentienbehandlung das Protoplasma dauernd geschädigt und das Ineinandergreifen der Kern- und Protoplasmaveränderungen gestört worden wäre.

Während der normalen Furchungsstadien finden am Kern 2 Vorgänge statt, eine Zunahme an Masse (Wachstum) und die karyokinetischen Prozesse (Metamorphose). Sie laufen parallel und in gleichem Rhythmus nebeneinander her. *Chinin und Chloral stören nur die Karyokinese, während die Substanzaufnahme daneben unbehindert sich vollzieht;* schon früher haben wir darauf aufmerksam gemacht, daß ein Kern gezwungen werden kann zu wachsen, ohne sich zu teilen, daß in dieser Hinsicht kein enger Zusammenhang zwischen beiden Prozessen besteht; um so auffallender ist es, daß die Teilung vom Wachstum beeinflußt wird, indem eine bestimmte Größenzunahme des Kerns direkte Vierteilungen veranlaßt.

Ähnliche Kernveränderungen, wie wir sie durch Chinin und Chloral herbeigeführt haben, treten auch bei Polyspermie ein. Mag die Vereinigung des Eikerns mit 2 Spermakernen durch

längeres Liegen, durch Behandlung mit Chinin, Chloral, Nikotin, Strychnin etc. eingetreten sein, stets bildet sich der Kern direkt zum Tetraster um; auch die soeben erwähnten Modifikationen des Tetrasters kommen vor; es kann eine diagonale Spindel noch hinzutreten oder es kann eine Spindel mit einem Ende ausscheiden worauf die übrigen zu einem Dreieck zusammenschließen. In allen diesen Fällen sind 4 Kerne und 4 meist gut von einander getrennte Furchungskugeln das Produkt der ersten Teilung.

Neue aber nach gleichem Prinzip aufgebaute Kernfiguren entstehen, wenn mehr als 2 Spermakerne zum Eikern geschlagen werden. Die Zahl der Kernpole nimmt ganz bedeutend zu, wahrscheinlich im allgemeinen in einem gewissen Verhältnis zur Zahl der zur Vereinigung gelangten Spermakerne. Es entstehen Kernfiguren mit 7—19 Spindeln und 5- 8 Polen. Die Vierteilung wird durch unregelmäßige Teilungen in 3, 6, 8 Stücke oder endlich in viele Stücke ersetzt. Die Teilung verliert ihren normalen Charakter auch insofern, als die Teilstücke lange Zeit durch Brücken untereinander verbunden bleiben oder sich überhaupt nicht vollkommen voneinander trennen.

Da in allen Fällen eine Schädigung der Eizelle durch Reagentien oder mechanische Eingriffe der Polyspermie vorangegangen ist, so könnte man zweifelhaft sein, inwieweit die Schädlichkeiten für die eigentümliche Art der Kernteilung verantwortlich gemacht werden müssen, wenn nicht 2 Momente klar beweisen, daß mindestens in vielen Fällen die Polyspermie allein genügt, um die wichtigen Erscheinungen hervorzurufen.

1. Bei Erzeugung von Polyspermie durch Morphium, Strychnin, Nikotin, also Reagentien, welche den Teilungsprozeß an und für sich gar nicht oder fast gar nicht beeinflussen, treten Tetraster und Polyasterfiguren auf, *welche nicht aus Reagentienwirkung, sondern nur aus Vielbefruchtung erklärt werden können.*

2. Von Wichtigkeit ist der Zeitpunkt, in dem die Vierteilung eintritt. Bei doppelt befruchteten Eiern tritt die Vierteilung ein, wo andere normal befruchtete Eier sich zweiteilen; *sie ist also nicht verzögert, wie es sein müßte, wenn die Anwendung von Reagentien Ursache wäre.*

Beide Momente zusammengenommen beweisen unzweifelhaft, daß die Doppelbefruchtung mit Notwendigkeit zur Vierteilung führt.

Da das Eindringen von 2 Spermatozoen in das Ei schon

wiederholt vermutungsweise als Ursache der Zwillingsbildung angesehen worden ist, so liegt es nah, die direkte Vierteilung als ersten Anfang einer Zwillingsbildung zu deuten. Dieser Idee nachgehend, haben wir versucht, ob sich vielleicht die Vierteilung und die daran anschließenden weiteren Furchungen bei Doppelbefruchtung von den entsprechenden Vorgängen bei chloralisierten, monospermen Eiern unterscheiden lassen. Es könnte ja durch die Anordnung der Furchungskugeln der Beweis beigebracht werden, daß eine Doppelanlage im Ei vorhanden ist. Trotz wiederholter Versuche sind unsere Bemühungen resultatlos geblieben. Auch liegt zunächst wenigstens eine andere Möglichkeit der Erklärung näher. Durch das Eindringen von 2 Spermakernen ist der Eikern in einen Zustand versetzt, den er bei Chloralbehandlung ebenfalls erreicht; er hat bedeutend an Masse zugenommen und einen Umfang gewonnen, den er dort wesentlich später und auf anderem Wege, durch Ernährung vom Protoplasma aus, erreicht hat; es wäre wohl denkbar, daß eine gewisse Größenzunahme des Kerns allein schon ausreicht Vierteilung zu erzeugen, gleichgültig ob dieselbe durch abnormes Wachstum oder durch Aufnahme eines zweiten Spermatozoon veranlaßt wurde.

Wir wollen hiermit nicht sagen, daß einem jeden Wachstum des Kerns dieser Einfluß auf die Teilung zukommt. Bekanntlich vergrößern sich manche Kerne, wie das Keimbläschen des Eies zu abnormer Größe und verlieren dabei jede Teilfähigkeit. Man wird daher zu der Annahme gezwungen, daß beim Wachstum des Kerns eine bestimmte Konstitution, vielleicht ein bestimmtes Mischungsverhältnis der verschiedenartigen Kernsubstanzen gewahrt bleiben muß.

Da wir auf die Frage der Zwillingsbildungen geführt worden sind, wollen wir gleich zusammenstellen, was wir hierüber bei Beobachtung der Weiterentwicklung der polyspermen Eier ermittelt haben. Während unseres Meeresaufenthalts haben wir dieser zuerst von Fol angeregten Frage ganz besondere Aufmerksamkeit gewidmet. Wir haben Tausende von Larven aus überfruchteten Eiern gezüchtet und auf dem Gastrula- und Pluteusstadium untersucht, da voraussichtlich um diese Zeit Zwillingsbildungen am besten hätten erkannt werden müssen. Allein unsere Ausbeute war eine ganz verschwindende, wir haben einige wenige Larven mit doppelter Gastrulaeinstülpung und einige wenige Plutei mit doppelter Spitze aufgefunden. Die geringe, höchstens ungefähr zehn betragende

Zahl von Doppelgastrulae steht in gar keinem Verhältnis zu den Tausenden von einfachen Gastrulae, welche wir aus überfruchteten Eiern gezüchtet haben, sodaß man sie keinenfalls als Beweise für die Ansicht, daß Doppelbefruchtung Doppelmißbildungen verursacht, ausnutzen kann. Immerhin möchten wir auch nicht die Theorie dadurch für widerlegt halten. Da wir vom Seeigel keine Doppelmißbildungen kennen, wäre es wohl möglich, daß diese Tiere ungünstige Organisationsbedingungen besitzen. Es könnten ja gleichwohl zwei Anlagen vorhanden gewesen sein, von denen aber nur eine sich entwickelt, die andere mit jenen wenigen Ausnahmen sich rückgebildet hätte. Wir wollen daher später noch einmal auf die Frage zurückkommen und dann mit Tieren experimentieren, welche ebenso günstige Eier wie die Seeigel haben, bei denen aber das Vorkommen von Doppelmißbildungen schon festgestellt ist.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

